



Titre: Contrôle de la morphologie d'hydrogels poreux à partir de
Title: structures polymères

Auteur: Anne-Laure Esquirol
Author:

Date: 2013

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Esquirol, A.-L. (2013). Contrôle de la morphologie d'hydrogels poreux à partir de
Citation: structures polymères [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal].
PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/1206/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/1206/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Nick Virgilio, & Pierre Sarazin
Advisors:

Programme: Génie chimique
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

CONTRÔLE DE LA MORPHOLOGIE D'HYDROGELS POREUX À PARTIR
DE STRUCTURES POLYMÈRES

ANNE-LAURE ESQUIROL

DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CHIMIQUE)
AOÛT 2013

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

CONTRÔLE DE LA MORPHOLOGIE D'HYDROGELS POREUX À PARTIR DE
STRUCTURES POLYMÈRES

présenté par : ESQUIROL Anne-Laure

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. FAVIS Basil, Ph.D., président

M. VIRGILIO Nick, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. SARAZIN Pierre, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

Mme HEUZEY Marie-Claude, Ph.D., membre

DÉDICACE

À mon père,

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, le professeur Nick Virgilio, pour m'avoir fait l'honneur d'être sa première étudiante aux cycles supérieurs. Ses compétences scientifiques et humaines ont fait de ces deux années une aventure extrêmement agréable. Je lui suis également très reconnaissante de m'avoir offert l'opportunité de réaliser la charge de travaux dirigés du cours de Thermodynamique I à l'École Polytechnique de Montréal, qui a été une expérience très enrichissante. Enfin, je tiens à le remercier pour son soutien et sa bonne humeur continuelle.

Je remercie bien évidemment M. Pierre Sarazin, qui a été mon directeur de stage puis mon codirecteur à la maîtrise. Il a été un élément majeur tout au long de ce projet en apportant ses conseils et son aide. Ses connaissances approfondies dans les mélanges de polymères m'ont permis d'avancer plus rapidement et d'en apprendre beaucoup dans ce domaine. Je tiens enfin à exprimer mes remerciements au duo composé de Nick Virgilio et de Pierre Sarazin qui fait preuve d'une évidente synergie.

Je tiens à exprimer ma gratitude au professeur Basil Favis qui m'a initialement accueillie au sein de son groupe. Reconnu mondialement dans le domaine des mélanges de polymères, il m'a transmis les bases nécessaires pour débiter cette maîtrise d'un bon pied. Son cours à l'École Polytechnique de Montréal intitulé « Mélanges de Polymères » a été l'un des plus marquants de mon cheminement scolaire.

Mon travail sur la culture cellulaire n'aurait été possible sans l'apport du professeur Nathalie Fauchoux de l'Université de Sherbrooke. Celle-ci a réalisé des essais en collaboration avec son groupe de recherche qui ont contribué à l'approfondissement des applications possibles de mes recherches. Également, appartenant à la même université, je remercie Irène Kelsey pour sa formation et son appui sur le Microtomographe.

Merci au professeur Marie-Claude Heuzey d'avoir accepté de m'engager en tant que chargée de travaux dirigés pour le cours de Science et ingénierie des polymères à l'École Polytechnique de Montréal. Cette initiation à l'enseignement a été enrichissante et ce fut un plaisir de travailler en sa compagnie.

Je remercie également Claire Cerclé pour avoir égaillé ces deux années grâce à sa bonne humeur et son aide en tant qu'associée de recherche. Le support des techniciens de génie chimique, Guillaume Lessard, Martine Lamarche et Gino Robin, a été déterminant pour l'avancement de mes travaux. Merci également à Philippe Plamondon pour sa formation au Microscope électronique à balayage ainsi qu'à Vincent Darras pour son accompagnement aux essais de lyophilisation.

Je remercie finalement mes proches pour leur soutien inconditionnel ainsi que collègues et amis pour tous ces excellents moments passés à l'École Polytechnique de Montréal.

RÉSUMÉ

Ce projet de maîtrise présente une nouvelle méthode de fabrication permettant l'obtention de gels comportant des réseaux poreux interconnectés à partir de structures polymères co-continues. Les contributions originales sont : (1) le développement d'un procédé de préparation de gels poreux permettant un contrôle étendu des diamètres de pores moyens, de leur fraction volumique et de leur interconnectivité par l'utilisation des mélanges de polymères co-continus; (2) la caractérisation microstructurale de ces hydrogels avec des techniques récentes telle que la microtomographie à rayons X; (3) la réalisation de ces échantillons à grande échelle par l'utilisation d'équipements industriels.

Les polymères et les hydrogels poreux suscitent, depuis une vingtaine d'années, un grand intérêt dans de nombreux domaines : les systèmes de filtrations hautes performances, les supports catalytiques pour réactions biochimiques, les capsules contrôlant la libération de médicaments ou encore les matrices pour la culture cellulaire. Dans ce dernier cas, appartenant au domaine de l'ingénierie tissulaire, un contrôle rigoureux des paramètres de porosité est exigé sur plusieurs points : (1) la taille de pore moyenne; (2) leur fraction volumique; (3) leurs interconnectivité. Les hydrogels poreux sont d'excellents candidats pour ces applications en raison de leurs ressemblances avec les matrices extracellulaires (composition, propriétés mécaniques et propriétés de diffusion). De nombreuses techniques ont été élaborées et étudiées pour réaliser ces structures 3-D comportant une microstructure des pores plus ou moins interconnectés. Malgré les progrès des dernières années, ces méthodes présentent encore de nombreuses lacunes au niveau du contrôle de la microstructure des pores, de la diversité des familles de gels applicables et de la mise à l'échelle du procédé pour une application industrielle rentable. Ce projet propose une nouvelle méthode, basée sur les mélanges de polymères, permettant de pallier à ces problèmes ainsi que diverses méthodes de caractérisation associées en vue d'applications dans le domaine de l'ingénierie tissulaire.

Des structures poreuses de poly(L-lactide) (PLA) ont été réalisées à partir d'un mélange binaire non miscible et co-continu de polystyrène/ poly(L-lactide) (PS/PLA) 50/50 %vol préparé par différentes méthodes: (1) mélangeur interne (échantillons cubiques de 0.8 mm de côté) et (2) extrusion jumelée au moulage par injection qui ont permis la fabrication de barreaux de dimensions supérieures (0.95 cm \times 1.25 cm \times 6.3 cm). Par la suite, différents temps de recuits

statiques ont été appliqués sur ces mélanges binaires PS/PLA à 190 °C afin de faire varier les dimensions caractéristiques de la morphologie co-continue : (1) 0, 10, 30, 60 et 90 min pour les échantillons cubiques et (2) 0, 10, 20 et 30 min pour les barreaux. La phase PLA a ensuite été isolée grâce à l'extraction sélective par solvant de la phase de PS pour former une structure PLA poreuse. Des analyses gravimétriques ont permis de démontrer une co-continuité des phases supérieure à 95% pour les structures cubiques et supérieure à 85% pour les barreaux. La morphologie co-continue des matériaux PLA poreux a été caractérisée par des observations au microscope électronique à balayage (MEB) pour les cubes de chaque recuit. Des méthodes récentes par analyse d'images, à partir des micrographies MEB, ont démontrées des diamètres de pore moyens variant de 3 μm à plus de 400 μm et des aires interfaciales spécifiques allant de 5800 cm^{-1} à 45 cm^{-1} (pour des recuits de 0 min à 90 min). En parallèle, les porosités des barreaux ont été analysées qualitativement par microtomographie à rayons X et il a été déduit que leur taille moyenne des pores variait de 10 μm à environ 500 μm (pour des recuits allant de 10 min à 30 min). Des solutions d'agar ou d'alginate ont été par la suite injectées dans les structures de PLA poreuses à l'aide d'un système à pistons manuel, suivi d'une gélification *in situ*. Des observations à l'œil nu et au microscope optique du centre des échantillons ont montrées des injections complètes dans les porosités supérieures à 20 μm pour les échantillons cubiques et environ 300 μm pour les barreaux. Ces observations sont également appuyées par la caractérisation de la morphologie des gels. Les phases polymères (PLA) ont ensuite été dissoutes grâce à une seconde extraction par solvant pour ne laisser que les structures gélifiées.

Les analyses par microtomographie à rayons X de ces gels ont permis la construction d'images 2-D et 3-D démontrant une morphologie fidèle à celle imposée par le moule. Pour les gels préparés avec des échantillons cubiques (recuit du moule PLA de 60 min), une taille de pore moyenne d'environ 285 μm est obtenue, comparativement à 200 μm pour le moule, ainsi qu'une aire interfaciale spécifique de 70 cm^{-1} , comparativement à 100 cm^{-1} pour le moule PLA. Pour des gels préparés avec les barreaux de PLA (recuit de 30 min) la porosité moyenne est du même ordre de grandeur que celle du moule (analyse qualitative). L'efficacité de deux méthodes de stérilisation a été prouvée sur des géloses nutritives (GN) et gélose cœur cerveau (GCC) puisqu'aucune colonie bactérienne n'est apparue. La première méthode est la lyophilisation suivie d'un étuvage à 120 °C dans un environnement stérile. La morphologie des gels a été étudiée par microtomographie avant lyophilisation, après lyophilisation, puis finalement - après

réhydratation et démontre la conservation des dimensions macroscopiques, de la morphologie et de la porosité des gels sur un même ordre de grandeur. La seconde méthode concernait l'utilisation de bains successifs dans une solution d'éthanol. Finalement, des essais en compression (DMA) ont démontrés que les propriétés mécaniques en compression des hydrogels poreux sont plus faibles que celles des hydrogels sans porosité.

ABSTRACT

This master thesis presents a new fabrication method to prepare hydrogels with fully interconnected and tunable macropore networks prepared with co-continuous polymer blends. The main contributions are: (1) a hydrogel fabrication process providing a high control over the average pore size diameter, their volume fraction and their interconnectivity; (2) the microstructural characterization of porous hydrogels with new techniques such as X-ray microtomography and (3) the preparation of porous gels with industrial equipment such as extruders and injection molding presses.

The development and improvement of methods and techniques to prepare porous polymers and porous gels have been intensive areas of research in materials science over the past 20 years because of their potential use in fields as diverse as high performance membranes and filtration devices, supports for catalysis and biochemical reactions, encapsulating devices for drug release, and scaffolds for cells seeding and proliferation. For this last application, in tissue engineering, some typical parameters related to porosity must be rigorously controlled: (1) the average pore size diameter; (2) the pore volume fraction; (3) the pore interconnectivity. Porous hydrogels are excellent candidates due to their similarities with the extracellular matrix (composition, mechanical properties and diffusion properties). A certain number of methods and techniques have been developed and studied to prepare gels comprising microstructured 3-D networks of (more or less) interconnected pores (also called sometimes microfluidic gels or (macro)porous gels). Even though there has been progress in the recent years, many of these techniques suffer either from limited control over the final pore network microstructure, are limited in terms of usable gel chemistries and are difficult to scale-up into a profitable industrial process. This project proposes a new method, based on polymer blend technology, to overcome these problems. It also presents a characterization methodology related to potential applications in the field of tissue engineering.

Poly(L-lactide) (PLA) porous materials were realized from immiscible and co-continuous binary blends of polystyrene/poly(L-lactide) (PS/PLA) at 50/50 %vol prepared by different methods : (1) internal mixer (cubic samples with 0.8 mm sides) and (2) extrusion followed by injection molding which allows the fabrication of bars with superior dimensions (0.95 cm × 1.25 cm × 6.3 cm). Quiescent annealing of the binary blends was performed at 190 °C to tune the

characteristic dimensions of the co-continuous morphology: (1) 0, 10, 30, 60 and 90 min for cubic samples and (2) 0, 10, 20 and 30 min for bars. Afterwards, the PLA phase has been isolated by a specific solvent extraction of the PS phase to obtain porous PLA molds. Gravimetric analysis have demonstrated a co-continuity superior to 95% for cubic samples and superior to 85% for the bars. This morphology was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) for each annealing time (for the cubic samples). Image analysis performed on the SEM micrographs have demonstrated that the average pore diameter can range from 3 μm to over 400 μm and that the specific interfacial area ranges from 5800 cm^{-1} to 45 cm^{-1} , for annealing times going from 0 min to 90 min). The porosity of the bars was observed by X-ray microtomography and shows that the average pore diameter ranges from 10 μm to 500 μm (annealing from 10 min to 30 min). Solutions of agar or alginate were subsequently injected into the PLA porous molds by using a manual injection system, followed by an *in situ* gelification. Visual inspections and optical microscope observations show a complete injection for molds with average pore sizes over 20 μm (cubic samples) and over 300 μm (for bars). These assumptions are also supported by the gels morphology characterization. The second polymer phase (PLA) was subsequently dissolved using a second selective solvent, leaving only the porous gel structures.

X-ray microtomography analysis, which provide 2-D and 3-D images, have demonstrated that the morphologies of the porous gels are similar to the PLA molds microstructures. For example, porous gels prepared with cubic PLA molds annealed during 60 min, show an average pore size of about 285 μm (as compared to 200 μm for the PLA molds) and a specific interfacial area of 70 cm^{-1} (as compared to 100 cm^{-1} for the PLA molds). Similar results were obtained for the porous gels prepared with the porous PLA bars (qualitative observation). The effectiveness of two sterilization methods has been proven on nutrient agar (NA) and "Brain Heart Infusion" (BHI) with no bacterial colonies apparition. The first method is the freeze-drying followed by an oven treatment at 120 °C in a sterile environment. The porous gel morphology was characterized by X-ray microtomography before and after freeze-drying, and after rehydration, demonstrating the conservation of the macroscopic dimensions of the gels, of their morphologies and porosities. The second method is the successive baths in an ethanol solution. Finally mechanical compression tests have shown that porous gels, as can be expected, have a lower compressive resistance as compared to non-porous hydrogels.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	VI
ABSTRACT	IX
TABLE DES MATIÈRES	XI
LISTE DES TABLEAUX.....	XIV
LISTE DES FIGURES	XV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XXI
LISTE DES ANNEXES	XXV
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
1.1 Mélange de polymères non miscibles co-continus.....	5
1.1.1 Principes fondamentaux des mélanges de polymères	6
1.1.2 Co-continuité : Morphologie	10
1.1.3 Coalescence et rupture de phase.....	11
1.1.4 Influence du temps de mélange	16
1.1.5 Influence de la température de mélange.....	18
1.1.6 Influence du recuit.....	21
1.1.7 Ajout de compatibilisants.....	23
1.1.8 Calcul et caractérisation de la co-continuité	25
1.2 Polymères poreux préparés à partir de mélanges de polymères co-continus	29
1.2.1 Techniques de fabrication de structures poreuses	29
1.2.2 Contrôle de la taille des porosités	32

1.2.3	De nombreuses possibilités	32
1.2.4	Applications	33
1.3	Hydrogels poreux	38
1.3.1	Familles d'hydrogels	38
1.3.2	Hydrogels physiques : agar et alginate.....	41
1.3.3	Techniques d'élaboration de gels poreux.....	45
1.3.4	Caractérisations	50
1.3.5	Applications	51
CHAPITRE 2	MÉTHODOLOGIE EXPERIMENTALE.....	55
2.1	Schéma de synthèse de la méthodologie	56
2.2	Matériaux polymères.....	57
2.2.1	Mélanges des polymères et recuit statique.....	57
2.3	Matériaux hydrogels.....	61
2.3.1	Réalisation de l'hydrogel poreux	61
CHAPITRE 3	SYNTHÈSE	64
3.1	Contrôle de la porosité d'une structure PLA à partir d'un mélange binaire PLA/PS	64
3.2	Étude de l'injection des hydrogels dans les moules de PLA poreux	69
3.3	Analyse de la microstructure des hydrogels poreux.....	71
3.4	Lyophilisation, réhydratation et stérilisation.....	75
3.5	Étude qualitative des tests en compressions sur des hydrogels poreux et non poreux...	78
3.6	Discussion générale.....	80
CONCLUSION	83
RECOMMANDATIONS FUTURES	85
BIBLIOGRAPHIE	87

ANNEXES	95
---------------	----

LISTE DES TABLEAUX

Figure 1.24 : Approche de l'ingénierie tissulaire du remplacement d'organe par la culture cellulaire (Kim & Mooney, 1998).....	35
Tableau 1. 1 : Taille optimale des pores pour la régénération tissulaire (Sarazin, Roy, & Favis, 2004).....	36
Tableau 1.2 : Exemples de polymères naturels et monomères synthétiques utilisés pour former des hydrogels (Chippada, 2010).....	40
Tableau 1.3 : Autres classifications des hydrogels (Chippada, 2010).	41
Tableau 1.4 : Avantages et désavantages de différentes techniques de base utilisées pour la formation d'hydrogels poreux co-continus.	47
Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des technologies de prototypage rapides (PR) (Landers et al., 2002).....	49
Tableau 1.6 : Exemples de quelques hydrogels utilisés dans l'ingénierie tissulaire (Slaughter, Khurshid, Fisher, Khademhosseini, & Peppas, 2009).....	52
Tableau 1.7 : Taille optimale des porosités pour des matrices extracellulaires (Chiu et al., 2011).	54
Tableau 2.1 : Propriétés physiques du PS et du PLA utilisés.	57
Tableau 3.1 Co-continuité de la phase de PS, aire interfaciale spécifique S et taille de pore moyenne d en fonction du temps de recuit statique pour les échantillons préparés avec le mélangeur interne.....	66
Tableau 3.2 : Co-continuité de la phase de PS en fonction du temps de recuit statique pour les barreaux préparés par extrusion/injection.	68
Tableau 3.3 : Aire interfaciale spécifique S et taille de pore moyenne d des échantillons polymère et hydrogel poreux obtenus à partir des échantillons préparés par mélangeur interne avec recuit statique de 60 min :	73
Tableau 3.4 : Efficacité de différents solvants sur les matériaux hydrogels et polymères concernés dans cette étude.	82

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Évolution de l'entropie d'un système en fonction de la taille des molécules (de gauche à droite) : a) mélange entre deux molécules simples, b) polymère (en noir) dissout dans un solvant (en gris) et c) polymère A dans polymère B.	6
Figure 1.2 : Généralisation d'un diagramme des énergies libres d'un mélange pour différentes compositions (Robeson, 2007).	8
Figure 1.3 : Généralisation d'un diagramme de phase pour les mélanges de polymère représentant la température en fonction de la composition (Robeson, 2007).	8
Figure 1.4 : Représentation schématique de l'évolution de la morphologie d'un mélange non miscible binaire de polymères (Favis & Chalifoux, 1988).	11
Figure 1.5 : Différents mode de rupture de gouttelettes avec R le rayon et R_{crit} le rayon minimal pour que la division puisse se produire (Elmendorp, 1986).	12
Figure 1.6 : Élongation schématique d'une sphère de longueur L et de largeur B (Elmendorp, 1986).	13
Figure 1.7 : Cylindre déformé sinusoïdalement et présentation des différents paramètres associés (Elmendorp, 1986).	14
Figure 1.8 : Schéma décrivant l'évolution de la morphologie pendant le mélange à l'état fondu de deux polymères non miscibles dans un mélangeur interne, avec la température de fusion du polymère A supposée plus petite que celle du polymère B (Lee & Han, 1999).	17
Figure 1.9 : Image MEB d'un mélange PCL/PS (50/50) pour divers temps de mélange à 140°C. La bande blanche indique 10 μm (Sarazin & Favis, 2007).	18
Figure 1.10 : Continuité du PS (pointillés) et du PCL (ligne continue) en fonction de la fraction volumique du PS dans le mélange. Les lignes sont dessinées pour guider le regard (Sarazin & Favis, 2005).	19
Figure 1.11 : Images MEB pour le mélange PCL/PS (50/50) après l'extraction du PS (à gauche) ou du PCL (à droite). La barre blanche indique 10 mm (Sarazin & Favis, 2005).	20

- Figure 1.12 : Images MEB d'un mélange co-continu polystyrène/polyéthylène (50/50) : (a) sans recuit, (b) recuit à 180°C pendant 10 min, (c) recuit à 200°C pendant 30 min, at (d) recuit à 180°C pendant 30 min. (La barre blanche indique 100 μ m) (Yuan & Favis, 2005).21
- Figure 1.13 : Évolution de la taille des porosités d'un mélange polystyrène/polyéthylène (50/50) en fonction du temps de recuit pour différentes températures (Yuan & Favis, 2005).22
- Figure 1.14 : Présence de filaments dans les porosités d'un mélange polystyrène/polyéthylène 50/50 recuit à 190°C pendant 45 min (Yuan & Favis, 2005).22
- Figure 1.15 : Processus d'évolution de la microstructure co-continue pendant le recuit: (a) la branche la plus fine se vide dans les branches voisines ; (b) la branche devient ainsi de plus en plus fine, (c) la branche rompt ; et (d) les parties résiduelles se rétractent jusqu'à disparition (Yuan & Favis, 2005).23
- Figure 1.16 : Images MEB des mélanges 50/50 PS/PE avec 1% de copolymères à blocs PS-b-PE après 10 minutes de mélanges à 170°C et 50 rpm : (a) sans copolymère, (b) $M_w = 6$ kg/mol, (c) $M_w = 40$ kg/mol, (d) $M_w = 100$ kg/mol et (e) $M_w = 200$ kg/mol (échelle = 10 μ m) (Galloway, et al., 2005).24
- Figure 1.17 : La réciproque de l'aire interfaciale spécifique, $1/Q$, dans les mélanges 50/50 PS/PE en fonction du temps de recuit. Le ■ représente le mélange sans copolymère. Les symboles vides concernent les mélanges avec 1% de copolymères PS-PE pour différentes masses moléculaires : □-6 kg/mol, Δ -40 kg/mol, \diamond -100 kg/mol et \circ -200 kg/mol. Les lignes sont présentes pour guider le regard (Galloway, et al., 2005).25
- Figure 1.18 : a) Image MEB d'un PLA poreux et b) sa binarisation associée pour l'analyse d'image (A-L. Esquirol, résultats non publiés à ce jour).26
- Figure 1.19 : Exemple d'extraction d'une phase polymère pour un mélange binaire d'un polymère A (en noir) et d'un polymère B (en gris) : a) structure 3-D du mélange et b) structure 3-D du polymère B poreux après extraction de la phase A.30
- Figure 1.20 : Images MEB de polymères poreux réalisées par différentes méthodes : a) extraction d'un des polymères dans un mélange co-continu binaire (barre blanche à 100 μ m) ; b) « solvent-casting and particulate leaching » (barre blanche à 200 μ m) ; c) SPIT (barre

blanche à 50 μm); d) « gas foaming » (barre blanche à 500 μm) (Colosi et al., 2012) et e) FFS (barre blanche à 500 μm) (Zhang, 2011).....	31
Figure 1.21 : Image MEB de PLA poreux. La barre blanche correspond à 100 μm (A-L. Esquirol, résultats non publiés à ce jour).....	32
Figure 1.22 : Schéma et image MEB de la réalisation du mélange PS/PLA et de la structure poreuse PLA obtenue respectivement (Xiang, et al., 2009).....	34
Figure 1.23 : Effet des couches poly-électrolytes et de la stratégie de fermeture partielle de cellules : L0 = structure poreuse sans traitement, L0C structure poreuse avec fermeture partielle dont une ouverture dans un angle (aire ouverte de 2%), même chose pour L5C sauf que cet échantillon a subi également cinq dépositions CpC, L5 a simplement subi cinq dépositions CpC et l'image a) montre une aire ouverte de 2% (Xiang, et al., 2009).....	34
Figure 1.25 : Membrane polymère micro-poreuse (Subramania, et al., 2006).	37
Figure 1.26 : Organisation générale des hydrogels en fonction de la nature des points de réticulation (Syed, Gulrez, & Glyn, 2011).	39
Figure 1.27 : Exemples de gels « forts » physiques : a) microcristaux lamellaires, b) nodules vitreux et c) doubles hélices; chimiques : d) réticulation en bout de chaînes et e) réticulation aléatoire (les différents types de ligne représentent différentes chaînes) (Rubinstein & Colby, 2003).....	39
Figure 1.28 : Exemple de gels physiques « faibles » : a) liaisons hydrogènes, b) micelles de copolymères blocs et c) associations ioniques (Rubinstein & Colby, 2003).	40
Figure 1.29 : Molécule d'agarose (D-galactose à gauche et 3,6-anhydro-L-galactose à droite). ..	42
Figure 1.30 : Phénomène de gélification de l'agar (Laas, 1975).	42
Figure 1.31 : Principaux monomères composant l'alginate.....	43
Figure 1.32 : Mécanisme de formation de l'alginate (« egg-box model ») (Syed, et al., 2011). ...	44
Figure 1.33 : Gélatine poreuse réalisée par lessivage particulaire (diamètre de la boule d'environ 3 cm) (Phull et al., 2013).....	45

Figure 1.34 : Gélatine poreuse préparée par moussage au gaz (la barre noir correspond à 10 mm) (Barbetta, Rizzitelli, Bedini, Pecci, & Dentini, 2010).....	46
Figure 1.35 : Micrographie MEB d'un hydrogel d'alginate- Ca^{2+} et de poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) (la barre blanche correspond à 20 μm) (De Moura et al., 2005).....	46
Figure 1.36 : Hydrogel poreux d'acide hyaluronique (HA) (la barre blanche correspond à 20 μm) (Kim, Chung, & Park, 2008).	47
Figure 1.37 : Agar préparé par traçage 3-D (Landers, et al., 2002).	49
Figure 1.38 : Reconstruction en 2-D et 3-D d'un hydrogel poreux à base de protéines de soja (Guo, et al., 2013).....	50
Figure 1.39 : Les différentes possibilités de régénération tissulaire avec des structures hydrogels (Ottenbrite, 2010).	53
Figure 2.1 : Schéma sur la contribution principale du projet de maîtrise.	56
Figure 2.2 : Cube de PS/PLA mélangé à 190 °C à l'aide d'un mélangeur interne avec un recuit statique de 10 min.	58
Figure 2.3 : Barreau de PS/PLA mélangé à 190 °C par extrusion jumelée au moulage par injection (sans recuit).	59
Figure 2.4 : Schéma du système d'injection des moules de PLA poreux.	61
Figure 2.5 : Représentation de milieux non stériles LTC [(a) et (c)] et de milieux stériles [(b) et (d)] pour les géloses GC et GCC.....	63
Figure 3.1 : Images MEB présentant la microstructure interne des matériaux polylactide (PLA) poreux réalisés à partir d'un mélange polylactide/polystyrène (PLA/PS) 50/50 % vol. dans un mélangeur interne : a) $t_{\text{recuit}} = 0 \text{ min}$ (sans recuit) ; b) $t_{\text{recuit}} = 10 \text{ min}$; c) $t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$; d) $t_{\text{recuit}} = 60 \text{ min}$ and e) $t_{\text{recuit}} = 90 \text{ min}$	66
Figure 3.2 : Évolution de l'aire interfaciale spécifique S' (●) et de la taille de pore moyenne d (Δ) en fonction du temps de recuit statique t_{recuit}	67

Figure 3.3 : Images microtomographiques 2-D et 3-D des barreaux de PLA poreux préparés par extrusion/injection avec un mélange PLA/PS 50/50 %vol. pour un recuit de : a) et e) 10 min; c) et f) 20 min et d) et g) 30 min (les barres blanches et noires correspondent à 1 mm).68

Figure 3.4 : a) Image au cœur du volume d'un moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 10$ min) injecté avec de l'agar (en rouge); b) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30$ min) injecté avec de l'alginate (en bleu); c) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30$ min) vide (microscope optique); d) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30$ min) injecté avec de l'agar (en rouge) (microscope optique); e) idem que (d) sauf injecté avec de l'alginate (en bleu); f) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 10$ min) injecté avec de l'alginate (en bleu) montrant le cœur du volume non injecté (en blanc).70

Figure 3.5 : a) Moule poreux de PLA sous forme de barreaux ($t_{\text{recuit}} = 20$ min) injecté avec de l'alginate (en bleu) ; et b) remplissage incomplet d'un barreau ($t_{\text{recuit}} = 10$ min) injecté avec de l'alginate (en bleu) et le cœur du volume non injecté (en blanc).70

Figure 3.6 : a) Photographies de cube poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) et b) agar (en rouge) poreux moulé à partir de (a).72

Figure 3.7 : Images microtomographiques 2-D et 3-D du centre du volume des échantillons d'hydrogels cubiques (0.8 mm de côté) moulés à partir de structures PLA poreuse ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) : a) et c) agar (en rouge); b) et d) alginate (en bleu).73

Figure 3.8 : a) Barreau poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) et b) agar (en rouge) poreux moulé à partir de (a).74

Figure 3.9 : Images microtomographiques 2-D et 3-D du centre du volume des barreaux d'hydrogels moulés à partir de structures PLA poreuse ($t_{\text{recuit}} = 30$ min) : a) et b) PLA (en gris); b) et e) agar (en rouge); c) et f) alginate (en bleu).74

Figure 3.10 : Échantillon cubique d'agar poreux réalisé à partir d'un moule PLA ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) : a) indem, b) lyophilisé et c) lyophilisé puis réhydraté.75

Figure 3.11 : Images MEB des hydrogels lyophilisés, a) d'agar et b) d'alginate, moulés à partir de structures PLA poreuses cubiques ($t_{\text{recuit}} = 60$ min).76

Figure 3.12 : Images microtomographiques binarisées 2-D et 3-D de : a) et d) un échantillon cubique d'agar poreux réalisé à partir d'un moule PLA ($t_{\text{recuit}} = 60 \text{ min}$); b) et e) l'échantillon en (a) lyophilisé et c) et f) l'échantillon en b) réhydraté.....	76
Figure 3.13 : Résultats des essais de stérilisation pour les différents hydrogels.....	77
Figure 3.14 : Résultat des essais de stérilisation d'un hydrogel poreux lyophilisé et ce même échantillon après un bain d'éthanol/méthanol (85/15 vol%).	78
Figure 3.15 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.....	79
Figure 3.16 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit et d'agar sans porosité.	80
Figure A.1 : Spectre IRTF de l'agar (orange) et du toluène (Rose).....	97
Figure A.3 : Spectre IRTF de l'alginate (rouge) et du toluène (bleu).....	98
Figure A.4 : Spectre IRTF de l'alginate (rouge) et du chloroforme (rose).	98
Figure A.5 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'alginate poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.	99
Figure A.6 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'alginate poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit et d'agar sans porosité.	99
Figure A.7 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar (en rouge) et d'alginate (en bleu) poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.....	100
Figure A.8 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons d'agar (en rouge) et d'alginate (en bleu) sans porosité.	100

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

La liste des sigles et abréviations présente dans le mémoire ainsi que leur signification :

AI	Analyse d'image
AMD	Analyse mécanique dynamique
ASB	Albumine de sérum bovin
BET	Méthode Brunauer, Emmett et Teller
CCHP	Chaire sur les composites à hautes performance
CpC	Couche par couche
FEG-MEB	Microscopie électronique à balayage à canon d'émission de champs
FFS	Fabrication de forme libre solide
FSL	Frittage sélectif par laser
GCC	Gélose cœur et cerveau
GN	Gélose nutritive
HFP	hexa-fluoropropylène
I3D	Impression en 3-D
IJE	Impression par jet d'encre
IRTF	Infra-Rouge à Transformée de Fourier
LCMA	Laboratoire de caractérisation des matériaux
LCST	« Lower critical solution temperature »
LTC	Lymphocyte T cytotoxique
MDF	Modelage par dépôt en fusion
MEB	Microscopie électronique à balayage
MEC	Matrices extracellulaires
PAN	Polyacrylonitrile

PCL	Polycaprolactone
PEHD	Polyéthylène haute densité
PIM	Porosimètre à intrusion au mercure
PLA	Poly (L-lactide)
PNIPAAm	Poly (N-iso-propylacrylamide)
PP	Pression de pénétration
PS	Polystyrène
PVdF	Poly (fluorure de vinylidène)
RP	Prototypage rapides
SL	Stéréolithographie
SPIT	Séparation de phase induite par une variation de température
STP	Température et pression standard
UCST	« Upper critical solution temperature »
2-D	Deux dimensions
3-D	Trois dimensions
ΔG_m	Énergie libre du mélange
ΔH_m	Enthalpie du mélange
T	Température
ΔS_m	Entropie du mélange
Ω	Nombre de complexions
k	Constante de Boltzmann
ϕ_i	Fraction volumique d'un constituant « i »
P	Pression
p	Rapport des viscosités

η_d	Viscosité de la phase dispersée
η_m	Viscosité de la matrice
γ	Cisaillement total
R	Rayon des sphères dispersées
L	Longueur
B	Largeur
$\dot{\gamma}$	Taux de cisaillement
t	Temps
Ca	Nombre capillaire
σ	Tension interfaciale
\overline{R}	Rayon moyen
α	Amplitude de distorsion
z	Abscisse
$\underline{\lambda}$	Longueur d'onde
R_0	Rayon initial
t_b	Temps nécessaire pour atteindre la rupture des phases dispersées
N_c	Nombre de collisions
$m_{s,ini}$	Masse de l'échantillon avant extraction
$m_{s,fin}$	Masse de l'échantillon après extraction
$m_{PS\ in\ blend}$	Masse du PS dans le mélange initial
m_{blend}	Masse totale du mélange initiale
A	Aires interfaciales
V	Volume
P'	Périmètre

S	Surface
v_m	Volume de gaz à température et pression standard (STP)
v	Volume de gaz adsorbé expérimentalement à STP
p^0	Pression de saturation
N	Nombre d'Avogadro
a	Aire d'une molécule
V_M	Volume molaire du gaz
r	Rayon
θ	Angle de contact
F_u	Force compressive ultime
S'	Aire interfaciale spécifique
A'	Aire
d	Taille de pore moyenne
V_p	Volume de porosité
d_n	Diamètres moyens en nombre
d_v	Diamètres moyens en volume

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 – PARAMÈTRES DÉTAILLÉS DES MESURES AU MICROTOMOGRAPHE..	95
ANNEXE 2 – ANALYSES IRTF DES HYDROGELS POREUX	97
ANNEXE 3 – COURBES CONTRAINTE/DÉFORMATION DES HYDROGELS POREUX .	99

INTRODUCTION

Les polymères et les hydrogels poreux suscitent, depuis une vingtaine d'années, un grand intérêt dans de nombreux domaines : les systèmes de filtrations hautes performances, les supports catalytiques pour réactions biochimiques, les matrices pour la culture cellulaire et d'autres applications de l'ingénierie biomédicale. Ces matériaux poreux peuvent être utilisés pour l'ensemencement et la prolifération de cellules dans le but de reconstruire des tissus en 3-D ou en tant que capsules contrôlant la libération de médicaments. L'ingénierie tissulaire est un domaine ambitieux qui implique le développement de nouveaux matériaux ou structures capables d'interagir avec les tissus biologiques. Les avancées de ces technologies pourraient permettre aux patients transplantés, dans un futur proche, de ne plus être dépendants du don d'organe ou encore aux grands brûlés de retrouver une peau entièrement renouvelée. En effet, la combinaison de cette nouvelle génération de matériaux avec des cellules vivantes permettrait de reconstruire des organes difficilement accessibles de nos jours à cause d'un nombre trop peu important de donneurs ou encore de produire des tissus biologiques jusqu'à maintenant inaccessibles (comme les nerfs).

L'hydrogel est un matériau émergent pour les applications biomédicales puisqu'il possède de bonnes propriétés de biocompatibilité et une composition proche des matrices extracellulaires (MEC). Il est souvent composé de réseaux tridimensionnels de macromolécules polymériques, reliées entre elles par des liaisons chimiques ou physiques, capable de contenir une forte proportion d'eau (souvent > 90 %) ou des fluides biologiques (Peppas, 1986). Dans l'organisme, les MEC servent d'échafaudage de soutien et de milieu propice à la culture des cellules. Pour ce faire, une porosité aux caractéristiques précises est nécessaire en vue d'une culture en 3-D (Khademhosseini & Langer, 2007; Nichol & Khademhosseini, 2009; N. A. Peppas, Hilt, Khademhosseini, & Langer, 2006). La présence de pores interconnectés est indispensable puisqu'elle permet la diffusion de nutriments, l'évacuation des déchets et la vascularisation (Griffon, Sedighi, Schaeffer, Eurell, & Johnson, 2006; Kim, Kim, Vunjak-Novakovic, Min, & Kaplan, 2005; Tithi Dutta, Joshua, John, Rekow, & Van, 2003). Pour la survie des cellules, aucune porosité ne doit être isolée et l'épaisseur des canaux de gels ne doit pas dépasser 150 à

200 μm (Fidkowski et al., 2005). La taille de pore moyenne doit également être respectée en fonction des cellules cultivées. Cela peut aller de quelques micromètres pour des fibroblastes à plus de 500 μm pour la fibrovascularisation (Wake, Patrick, & Antonio, 1994; Whang et al., 1999). Les structures doivent également comporter un environnement stérile pour toutes les applications liées au domaine biomédical.

De nombreuses techniques ont été élaborées pour la fabrication d'hydrogels comportant des porosités interconnectées, telles que le moulage par solvant ou le lessivage particulaire (« solvant-casting or particulate leaching »), la séparation de phase induite par une variation de température (SPIT), le moussage avec un gaz (« gas foaming ») ou encore la fabrication de forme libre solide (SFF). Les dernières avancées permettent de contrôler de plus en plus précisément la microstructure de ces matériaux. Néanmoins, aucune de ces méthodes ne permet à ce jour de contrôler la microstructure sur de larges gammes de tailles de pore moyennes, de fractions volumiques de gels et de dimensions finales de la matrice tout en conservant un réseau entièrement interconnecté. Elles ne permettent généralement pas non plus l'insertion de cellules dans le gel avant la mise en forme, ce qui peut poser problème pour certaines applications. L'utilisation d'hydrogels pour la culture cellulaire vise bien évidemment des tissus « mous » possédant des propriétés mécaniques similaires. La fraction volumique de porosité et le passage de fluides doivent également être pris en compte puisqu'ils induisent des contraintes qui diminuent la résistance mécanique des gels poreux (Gerecht et al., 2007; Martin et al., 2000).

Les polymères comportant des porosités interconnectées sont, quant à eux, déjà largement étudiés pour la culture cellulaire, tout particulièrement pour les cellules osseuses (Gould et al., 2012; M.-Y. Lee et al., 2011; Miyoshi, Murao, Ohshima, & Tun, 2011). Grâce aux nombreuses recherches sur le comportement des mélanges de polymères, il est désormais possible d'obtenir de larges gammes de tailles de pore moyennes, de fractions volumiques et de dimensions finales. Ces polymères poreux peuvent également atteindre des co-continuités très élevées. Cependant, ils ne sont pas exploitables pour les tissus dits « mous » et leurs propriétés de biocompatibilité restent moins bonnes que celles des hydrogels. L'utilisation de ces mélanges immiscibles et co-continus est cependant une voie intéressante pour la fabrication d'hydrogels poreux. Les mélanges binaires non miscibles de polymères, avec des paramètres de mélanges déterminés, peuvent comporter deux phases co-continues dans tout le volume. Cette morphologie particulière, contrôlée par les phénomènes de coalescence et de rupture de phase qui ont lieu constamment au

cours du mélange, est dépendante des tensions interfaciales entre les polymères, de leurs propriétés viscoélastiques, des fractions volumiques des constituants et des conditions de mélange (température, pression, cisaillement, etc.). La taille moyenne des réseaux peut aller de moins de 1 μm à plus de 10 μm . Néanmoins, cet intervalle peut être étendu de 100 nm à plus de 1 mm par l'ajout de modificateurs interfaciaux (ex. copolymères à blocs) qui permettent la diminution des tensions interfaciales et suppriment partiellement ou complètement le phénomène de coalescence. La taille des réseaux interconnectés peut également être augmentée par des phénomènes d'instabilités capillaires lors de recuits statiques. L'extraction sélective à l'aide d'un solvant adéquat permet de conserver uniquement une des phases pour un mélange binaire: un polymère poreux comportant des porosités interconnectées est ainsi obtenu. Cette structure pourrait être utilisée pour l'injection de différents gels et pourrait permettre l'obtention de gels comportant une porosité interconnectée après une seconde extraction sélective de la phase polymère restante. Présentement dans la littérature, le moulage d'un gel dans une structure polymère poreuse suivi de l'extraction de ce dernier avec un solvant sélectif dans le but d'obtenir un gel poreux n'a encore jamais été rapporté.

Objectif de recherche

L'objectif général de cette maîtrise est de développer une nouvelle méthode de préparation d'hydrogels comportant des porosités interconnectés pour l'application dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, à partir de moules polymères poreux issus de mélanges de polymères co-continus.

Objectifs spécifiques

- Préparer des moules polymères, à partir d'un mélange binaire co-continu de polymères non miscibles, comportant des porosités interconnectés avec des tailles de pore moyennes variant de quelques μm à quelques centaines de μm .

- Développer un système permettant d'injecter des solutions contenant des gélifiants dans les moules polymères, gélifier les solutions *in situ*, puis extraire sélectivement les moules polymères pour obtenir des gels poreux.
- Développer des méthodes permettant de caractériser la microstructure de gels poreux.
- Établir des méthodes de stérilisation efficaces pour les matériaux hydrogels poreux obtenus dans l'objectif futur de culture cellulaire.
- Développer un protocole de fabrication de ces matériaux à grande échelle.

CHAPITRE 1 REVUE DE LA LITTÉRATURE

Ce projet de maîtrise s'est appuyé sur des bases scientifiques solides établies dans différents domaines, dont l'état des lieux de la littérature sera présenté dans ce chapitre. La connaissance des mélanges de polymères non miscibles co-continus est ici indispensable, car c'est à partir de la compréhension des relations thermodynamiques fondamentales, de la notion de co-continuité et des phénomènes de rupture de phase et de coalescence que la microstructure des mélanges pourra être contrôlée. Par l'extraction d'une des phases polymères une structure poreuse peut être obtenue, caractérisée par différentes techniques et permettre de nombreuses applications. Les différentes familles d'hydrogels seront également énumérées, particulièrement celle des hydrogels physiques auxquels appartiennent l'agar et l'alginate. Enfin, de la même manière que pour les polymères poreux, les techniques de fabrication des gels comportant un réseau de porosités interconnectées en 3-D seront détaillées suivi des méthodes permettant leur caractérisation et de leurs applications.

1.1 Mélange de polymères non miscibles co-continus

Les mélanges de polymères sont utilisés depuis plusieurs décennies dans l'industrie puisqu'ils représentent une voie facile en vue de l'amélioration des propriétés des matériaux plastiques. En effet, alors que la synthèse de polymère est souvent coûteuse et peut prendre plus d'une dizaine d'années de développement, les mélanges permettent d'obtenir une synergie des propriétés de manière moins coûteuse. Cependant, les caractéristiques de ces nouveaux matériaux vont dépendre de nombreux paramètres : des paramètres de mélange (appareil utilisé, température, temps et cisaillement appliqué), du rapport des viscosités, du rapport d'élasticité et des tensions interfaciales. Sur une certaine gamme de compositions, il est possible d'observer un phénomène appelé « co-continuité » pour les polymères non miscibles. Il s'agit de la morphologie du mélange où il n'est pas possible de distinguer la matrice de la phase dispersée, chaque phase étant interconnectée dans tout le volume. De nombreux travaux ont étudié ce phénomène puisqu'il conduit à diverses possibilités d'applications. Que ce soit pour obtenir de nouvelles propriétés, pour diminuer le coût de fabrication ou encore rendre un matériau polymère conducteur, cette structure est très étudiée et exploitée.

1.1.1 Principes fondamentaux des mélanges de polymères

Les mélanges miscibles de polymères permettent idéalement de combiner les propriétés de chacun de ses composants pour obtenir ultimement un effet de synergie. Cependant, ces mélanges sont très souvent non miscibles et il se produit alors des effets inverses tels qu'une chute des propriétés. Pour pallier à ces problèmes, il est indispensable de comprendre les relations thermodynamiques fondamentales associées aux matériaux polyphasiques.

Le comportement morphologique d'un mélange de polymères est directement relié à son énergie libre de mélange, d'après la relation suivante :

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m \quad (1)$$

avec ΔG_m l'énergie libre du mélange, ΔH_m l'enthalpie du mélange, T la température et ΔS_m l'entropie du mélange.

L'entropie du mélange est directement proportionnelle au logarithme du nombre de configurations du système d'après la relation de Boltzmann, c'est-à-dire au nombre d'arrangements possibles des différents composants dans le système :

$$\Delta S_m = k \times \ln \Omega \quad (2)$$

avec Ω le nombre de complexions (distribution statistique de n objets selon diverses configurations) et k la constante de Boltzmann. L'entropie du mélange est alors fortement dépendante de la taille des molécules qui composent le système, puisqu'elle va influencer le nombre d'arrangements possibles. Plus les poids moléculaires sont faibles, plus l'entropie du mélange va être grande et donc pousser l'énergie libre du mélange vers une valeur négative.

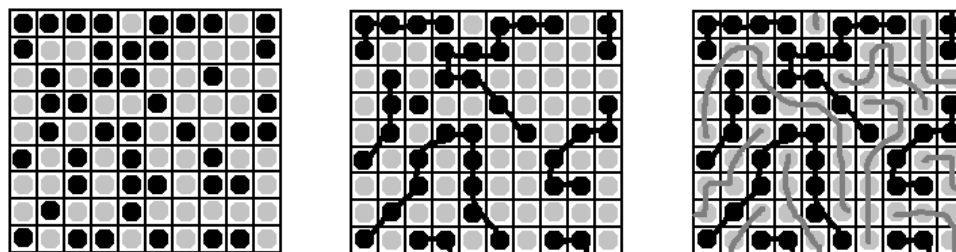


Figure 1.1 : Évolution de l'entropie d'un système en fonction de la taille des molécules (de gauche à droite) : a) mélange entre deux molécules simples, b) polymère (en noir) dissout dans un solvant (en gris) et c) polymère A dans polymère B.

Une molécule de polymère est formée d'une longue chaîne de monomères. On peut alors dénombrer peu de configurations possibles comparées aux petites molécules comme les solvants (Figure 1.1). De plus, la miscibilité d'un mélange nécessitant à priori une énergie libre de mélange négative, les mélanges de polymères sont alors généralement non miscibles. Ceci est dû au fait que le terme entropique ($T\Delta S_m$) va être inférieur à l'enthalpie du mélange ($\Delta H_m > 0$), ce qui engendre une énergie libre positive ($\Delta G_m > 0$).

Cependant, la miscibilité va également être reliée à la proportion des composants ainsi qu'aux paramètres de mélange (température et pression). Ainsi, pour qu'un mélange soit dit miscible, il faut respecter la condition suivante :

$$\left(\frac{\partial^2 \Delta G_m}{\partial \phi_i^2} \right)_{T,P} > 0 \quad (3)$$

Avec ΔG_m l'énergie libre du mélange, ϕ_i la fraction volumique du constituant « i », T la température et P la pression.

À partir de cette équation, pour chaque mélange, il est possible de déterminer les frontières associées aux régions des décompositions spinodales et les binodales (Figure 1.2). Ces dernières permettent de visualiser les zones de miscibilité et de non miscibilité selon la composition et la température du mélange (Koningsveld, Kleintjens, & Schoffeleers, 1974) (Figure 1.3).

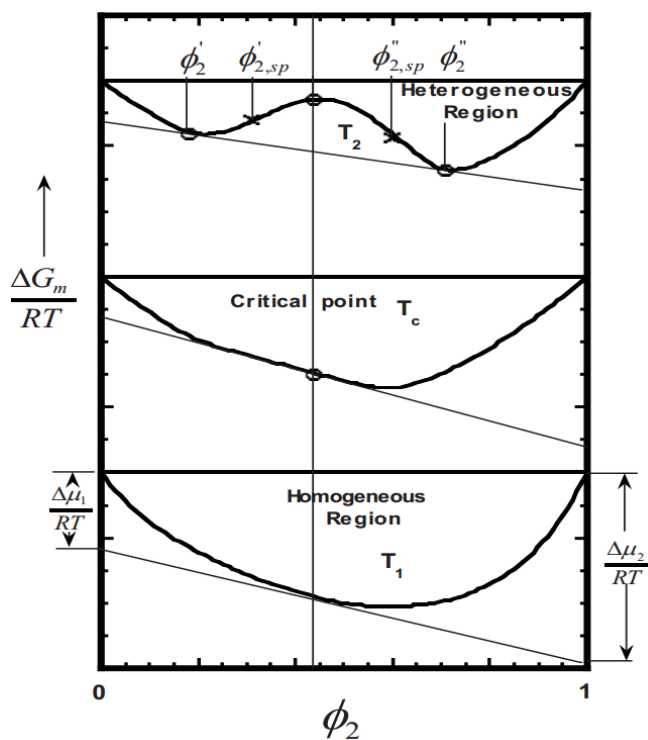


Figure 1.2 : Généralisation d'un diagramme des énergies libres d'un mélange pour différentes compositions (Robeson, 2007).

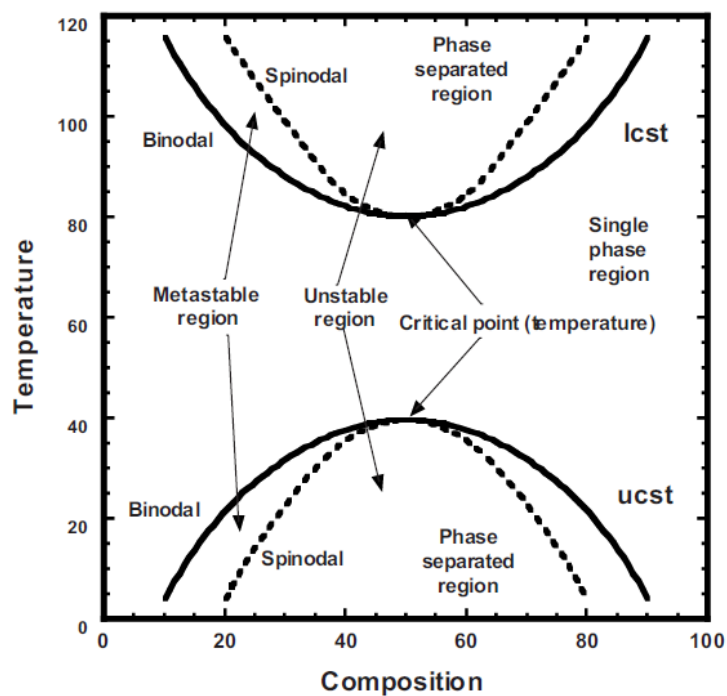


Figure 1.3 : Généralisation d'un diagramme de phase pour les mélanges de polymère représentant la température en fonction de la composition (Robeson, 2007).

Koningsveld et al. ont montré que la spinodale est tracée à partir de l'équation suivante, pour différentes températures de mélange :

$$\left(\frac{\partial^2 \Delta G_m}{\partial \phi_i^2} \right)_{T,P} = 0 \quad (4)$$

La binodale, quant à elle, est tracée à partir des minimums des courbes d'énergies libres du mélange en fonction de la composition (Figure 1.2) pour différentes températures.

La Figure 1.3 montre que les mélanges de polymères peuvent présenter des zones de non miscibilité pour les hautes et pour les basses températures. On appelle LCST (« lower critical solution temperature ») et UCST (« upper critical solution temperature ») les points entre lesquels le mélange est miscible peu importe la composition :

Erreur ! Signet non défini.
$$\left(\frac{\partial^3 \Delta G_m}{\partial \phi_i^3} \right)_{T,P} = 0 \quad (5)$$

Cependant, ces points n'existent pas pour tous les mélanges, il peut arriver que les courbes binodales et spinodales supérieures soient fusionnées avec les courbes inférieures. Dans ces cas, il faut travailler sur la composition du mélange pour arriver à une miscibilité. Cependant, pour des mélanges hautement miscibles les courbes LCST et UCST ne peuvent pas être trouvées expérimentalement puisqu'à basse température les mouvements des molécules sont limités, tandis qu'à haute température on observe une dégradation des chaînes macromoléculaires.

Entre la courbe binodale et la courbe spinodale, il existe une région dite métastable dans laquelle commence la séparation de phase par nucléation lente. Ce mécanisme diffère de celui qui a lieu dans la zone de décomposition spinodale menant également à la séparation des phases. Ces mécanismes de séparation vont mener à deux phases distinctes dont les compositions vont être déterminées par les extrémités de la courbe binodale (Robeson, 2007).

Pour la Figure 1.3, il est considéré que les masses moléculaires dans le mélange sont constantes. Par exemple, pour un mélange binaire d'un polymère A avec un polymère B, la masse moléculaire des molécules de A est égale à la masse moléculaire des molécules de B. Cette hypothèse permet l'obtention d'une courbe parfaitement symétrique.

Cette partie non exhaustive sur les relations thermodynamiques des mélanges de polymère permet de comprendre les raisons qui vont être à l'origine de la miscibilité ou de la non miscibilité des polymères.

1.1.2 Co-continuité : Morphologie

Les polymères étant très souvent non miscibles (Section 1.1.1), les mélanges à l'état fondu vont conserver des phases distinctes. La morphologie de ces phases va dépendre de nombreux critères. Parmi les paramètres importants de mélange, le rapport des viscosités, le rapport des élasticités et les tensions interfaciales vont définir la position relative des différentes phases entre elles.

Pour les mélanges binaires composés d'un polymère A et d'un polymère B, différentes morphologies peuvent-être observées en fonction des proportions (Figure 1.4). Tout d'abord, la phase en minorité A est sous forme de gouttes dispersées dans la matrice B. Ensuite, par l'augmentation de la proportion de A, les gouttes deviennent de plus en plus nombreuses et finissent par coalescer : il est alors possible de commencer à observer la co-continuité qui plafonne pour un intervalle de fractions volumiques précis. Le phénomène inverse se produit en continuant d'augmenter la proportion de A, celle-ci devenant la matrice avec des gouttes dispersées de B. Ainsi, par le simple contrôle de proportion des composants, il est possible d'obtenir différentes morphologies qui vont engendrer des propriétés très caractéristiques. Cependant, Li et Favis ont démontré que pour des tensions interfaciales faibles, certains mélanges binaires de polymères pouvaient présenter une microstructure co-continue indépendante de la composition (Li, Ma, & Favis, 2002). Ce phénomène est dû à une durée de vie supérieure des formes appelées communément « fils », de la phase polymère dispersée, en comparaison avec les formes « gouttelettes » (mécanisme dominé par la coalescence fils-fils).

La morphologie de gouttes dispersées dans une matrice est entre autres recherchée pour renforcer les propriétés mécaniques d'un polymère. Le polystyrène est un bon exemple, puisque ses propriétés d'impact peuvent être largement améliorées par l'association avec du polybutadiène (Joseph & Thomas, 2003). Ce mélange binaire est particulièrement connu sous le nom de HIPS (« high impact polystyrene »).

Les mélanges co-continus, quant à eux, peuvent également permettre l'amélioration des propriétés mécaniques, mais aussi des propriétés de conductivité (Yan et al., 2013) et de perméabilité (Ophir, Dotan, Belinsky, & Kenig, 2010).

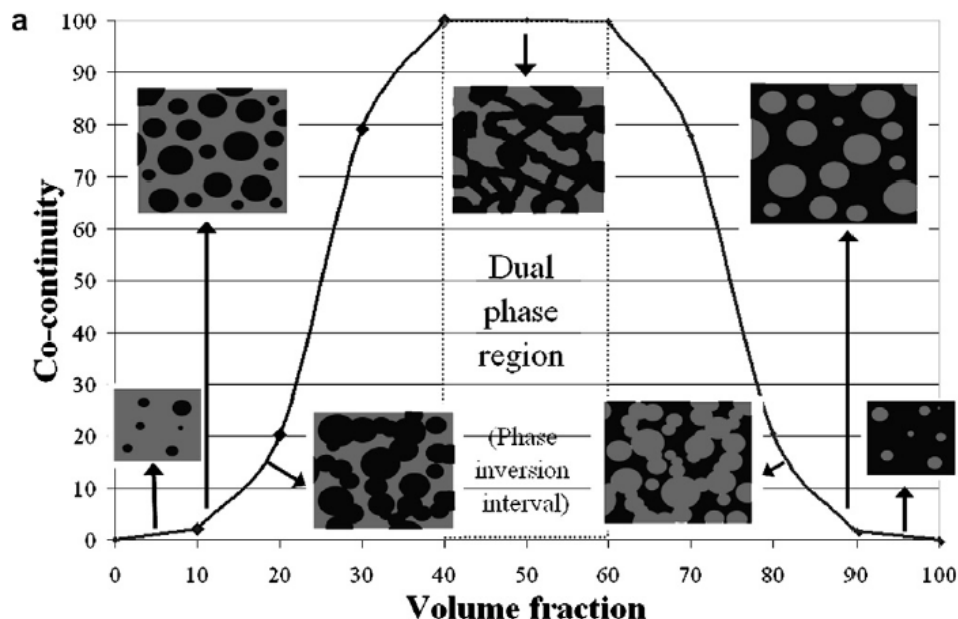


Figure 1.4 : Représentation schématisée de l'évolution de la morphologie d'un mélange non miscible binaire de polymères (Ravati & Favis, 2010).

1.1.3 Coalescence et rupture de phase

La morphologie des mélanges est directement guidée par l'équilibre entre les phénomènes de rupture de phase et de coalescence. C'est-à-dire, la capacité des phases d'une même composition chimique à se séparer et à s'assembler. Ces deux phénomènes dépendent des différents paramètres énoncés ci-dessus, tels que la nature des polymères (tensions interfaciales, élasticité et viscosité), leurs proportions et les conditions de préparation.

Lorsque des polymères sont mélangés, un cisaillement et une température (au-dessus de leurs températures de fusion) sont appliqués. Si le mélange est non miscible, la taille des gouttelettes formant la phase dispersée va diminuer avec le temps pour ensuite se stabiliser. Dans un premier temps les forces interfaciales sont négligeables jusqu'à un temps t où le diamètre des gouttelettes dispersées va cesser de diminuer. En effet, elles deviennent suffisamment petites pour résister aux forces hydrodynamiques. Cependant, tout au long du mélange elles ne cessent

de se rompre (Figure 1.5) et de se coalescer pour atteindre un certain régime stationnaire établi par les forces hydrodynamiques et les tensions de surfaces.

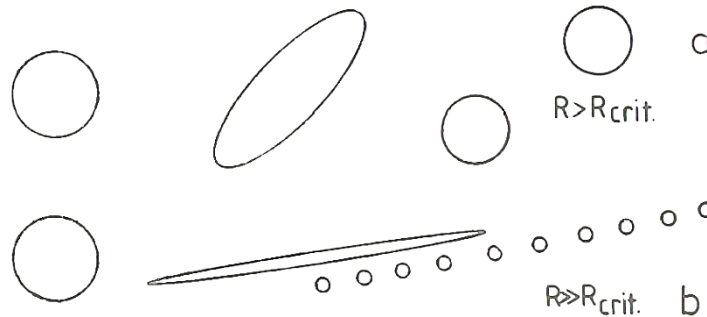


Figure 1.5 : Différents mode de rupture de gouttelettes avec R le rayon et R_{crit} le rayon minimal pour que la division puisse se produire (Elmendorp, 1986).

La co-continuité correspond à un équilibre entre la coalescence et la rupture de gouttelettes ou de fils dispersées suffisamment nombreux pour observer le phénomène de percolation (Li, et al., 2002).

1.1.3.1 Rupture de phase et instabilités capillaires

Lord Rayleigh a été un des premiers à permettre une analyse théorique de la rupture de phase par le biais de l'étude des tensions interfaciales (Rayleigh, 1892). Le terme de rupture de cylindre liquide est cependant introduit pour la première fois par Plateau avec l'observation de jets d'eau dans l'air (Plateau, 1873).

Au commencement du mélange, les tensions de surface n'interviennent pas dans le phénomène de rupture car les phases initiales sont relativement volumineuses. En effet, que le mélange soit miscible ou non les mêmes morphologies peuvent être observées dans un premier temps. Le système est gouverné par les forces hydrodynamiques jusqu'à atteindre un diamètre limite où les tensions de surfaces vont être non négligeables.

Lorsque les gouttelettes dispersées ne dépendent que des forces hydrodynamiques, c'est-à-dire des différentes forces appliquées au mélange, leur déformation va être largement guidée par le rapport des viscosités :

$$p = \frac{\eta_d}{\eta_m} \quad (6)$$

avec p le rapport des viscosités, η_d la viscosité de la phase dispersée et η_m la viscosité de la matrice.

Écoulement en cisaillement simple :

Pour un rapport $p \leq 1$, Starita a montré que la déformation des gouttelettes de la phase dispersée se produisait sur les lignes de courant formées dans la phase matricielle et qu'une structure plus fine était obtenue (Starita, 1972). Les gouttes tendent alors vers des ellipses de longueur L :

$$\frac{L}{2R} = \sqrt{(\gamma^2 + 1)} \quad (7)$$

avec γ le cisaillement total et R le rayon des sphères dispersées.

Pour $p \geq 1$, lorsque la matrice est moins visqueuse que la phase dispersée, le comportement de déformation a été largement étudié par Taylor (Taylor, 1932, 1934) puis par Cox (Cox, 1969) qui a pris en compte le paramètre temps :

$$D = \frac{L-B}{L+B} = \frac{5}{2p} \left(\sin\left(\frac{1}{2}\dot{\gamma}t\right) \right) \quad (8)$$

avec L la longueur, B la largeur d'une sphère, $\dot{\gamma}$ le taux de cisaillement et t le temps (Figure 1.6).

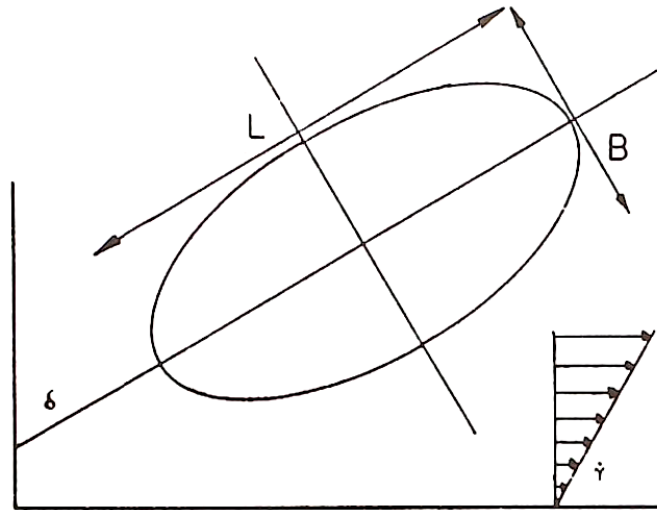


Figure 1.6 : Élongation schématique d'une sphère de longueur L et de largeur B (Elmendorp, 1986).

Pour des cisaillements faibles, Taylor a étudié la pression et la vitesse aux interfaces des gouttes dispersées et a exprimé la déformation par le nombre capillaire :

$$Ca = \frac{\eta_m \dot{\gamma} R}{\sigma} \quad (9)$$

avec σ la tension interfaciale.

À partir de cette formule, on peut confirmer que plus le rayon des gouttes devient faible, plus la tension interfaciale a de l'importance et inversement. Taylor a également établi un nombre critique Ca_{crit} à partir duquel la particule est capable de se rompre pour un système newtonien :

$$Ca_{crit} = \frac{1}{2} \frac{16p+16}{19p+16} \quad (10)$$

Écoulements élongationnels :

Dans ce cas, il n'y a plus de mouvement de rotation, mais simplement d'élongation. Les gouttes sont étirées dans une seule direction ce qui permet d'obtenir des ruptures peu importe le rapport de viscosité, mais pour des temps différents. Cette technique est donc très intéressante pour un rapport de viscosité p très grand (Kalb, Cox, & Manley, 1982).

Instabilités capillaires :

Tomotika a généralisé les travaux de Rayleigh pour un système de deux fluides newtoniens (Tomotika, 1935). Il décrit l'allure de la phase dispersée présentée sur le Figure 1.7.

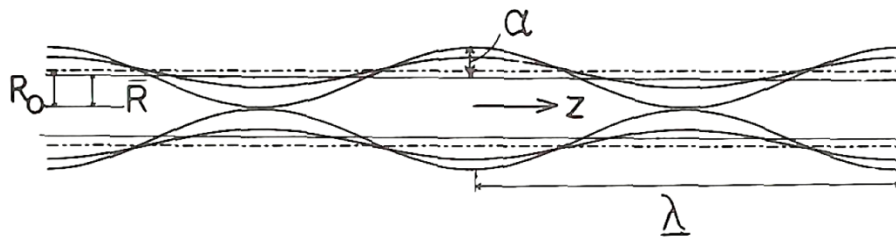


Figure 1.7 : Cylindre déformé sinusoidalement et présentation des différents paramètres associés (Elmendorp, 1986).

$$R(z) = \bar{R} + \alpha \sin\left(\frac{2\pi z}{\lambda}\right) \quad (11)$$

avec \bar{R} le rayon moyen du fil formé, α l'amplitude de distorsion, z l'abscisse le long du fil et λ la longueur d'onde de distorsion.

À partir de la conservation du volume, le rayon moyen du fil peut s'exprimer :

$$\overline{R}^2 = R_0^2 - \frac{\alpha^2}{2} \quad (12)$$

avec R_0 le rayon initial du fil. La rupture du fil est complète lorsque $\overline{R} = \alpha$, c'est-à-dire, lorsque $\alpha = 0.81R_0$.

Le calcul de l'aire de surface du fil sinusoïdal pour différents cas a démontré que lorsque $\lambda > 2\pi R_0$, cette même aire diminue et la distorsion augmente de manière exponentielle avec le temps :

$$\alpha = \alpha_0 \cdot \exp(qt) \quad (13)$$

avec α_0 la distorsion à $t=0$ et :

$$q = \frac{\sigma}{2\eta_m R_0} \Omega(\lambda, p) \quad (14)$$

avec la fonction $\Omega(\lambda, p)$ qui peut être calculée à partir des équations originales de Tomotika.

Ces différentes équations permettent ainsi d'établir le temps nécessaire t_b pour atteindre la rupture des phases dispersées :

$$t_b = \frac{1}{q} \ln\left(\frac{0.8R_0}{\alpha_0}\right) \quad (15)$$

1.1.3.2 Coalescence

Tout comme la rupture, la coalescence va avoir lieu continuellement lors du mélange de deux phases liquides non miscibles. Ce phénomène est favorisé par le fait que, pour un volume initial de particules dispersées, ces dernières vont chercher à minimiser leurs aires interfaciales totales pour atteindre un état d'énergie plus faible. La coalescence de deux gouttes peut être décrite par quatre étapes : leur collision, l'évacuation du film matriciel entre ces gouttes, la rupture de ce film et finalement leur fusion (Janssen & Meijer, 1995). Les travaux de Smoluchowski ont permis d'approximer le nombre de collisions, engendrées par les forces moléculaires, le mouvement Brownien et le cisaillement, par unité de volume et de temps (Smoluchowski, 1917) :

$$N_c = \frac{6\phi^2}{\pi^2 R^3} \dot{\gamma} \quad (16)$$

En revanche, le nombre de rupture est calculé comme suit :

$$N_b = \frac{\dot{\gamma}}{\gamma_c} \frac{C}{\frac{4}{3}\pi R^3} \quad (17)$$

Il est ainsi possible de déterminer la fraction volumique C pour laquelle ces deux phénomènes se produisent de manière égale :

$$C_{b=c} = \frac{\pi}{8\gamma_c} \quad (18)$$

Les nombres d'évènements de coalescence et de rupture dépendent, bien évidemment, de la concentration de la phase dispersée et du cisaillement appliqué. On peut calculer cette concentration directement à partir du cisaillement pour que la coalescence et la rupture des phases se produisent de manière équilibrée. C'est-à-dire, pour que la taille des sphères dispersées reste constante au cours du temps. Grace a montré que cette concentration est très faible avec une fraction volumique de 0.012 pour $\gamma_c=30$ (Grace, 1982). Au-delà de cette valeur la coalescence se produit plus fréquemment que les ruptures, ce qui explique pourquoi les phases dispersées ont généralement tendance à s'épaissir car leur concentration est rarement aussi faible. Néanmoins, il est souvent souhaitable d'obtenir des particules de petites tailles pour l'homogénéité des propriétés. La coalescence peut alors être modérée avec des agents interfaciaux (Favis, Cigana, Matos, & Tremblay, 1997) ou encore en utilisant des mécanismes de réorientation périodique (Perilla & Jana, 2005).

1.1.4 Influence du temps de mélange

L'influence du temps de mélange sur la co-continuité a été très peu étudiée. Cependant, les études concernées se sont particulièrement intéressées aux mélangeurs internes (Lee & Han, 1999; Sarazin & Favis, 2007).

La co-continuité est étroitement liée à la coalescence des phases, aussi la vitesse de cisaillement ou le flux extensionnel vont avoir une influence certaine sur la morphologie. Lee et Han ont présenté la co-continuité comme un état de transition au cours du mélange. En effet, selon leurs recherches, pour un temps suffisamment long, le mélange tend vers une dispersion de

gouttelettes dans une matrice (Figure 1.8). En d'autres mots, la co-continuité ne correspondrait qu'à l'état de transition de l'inversion des phases. Ils ont donc conclu qu'il existait une valeur mécanique critique pour laquelle on observait l'inversion des phases.

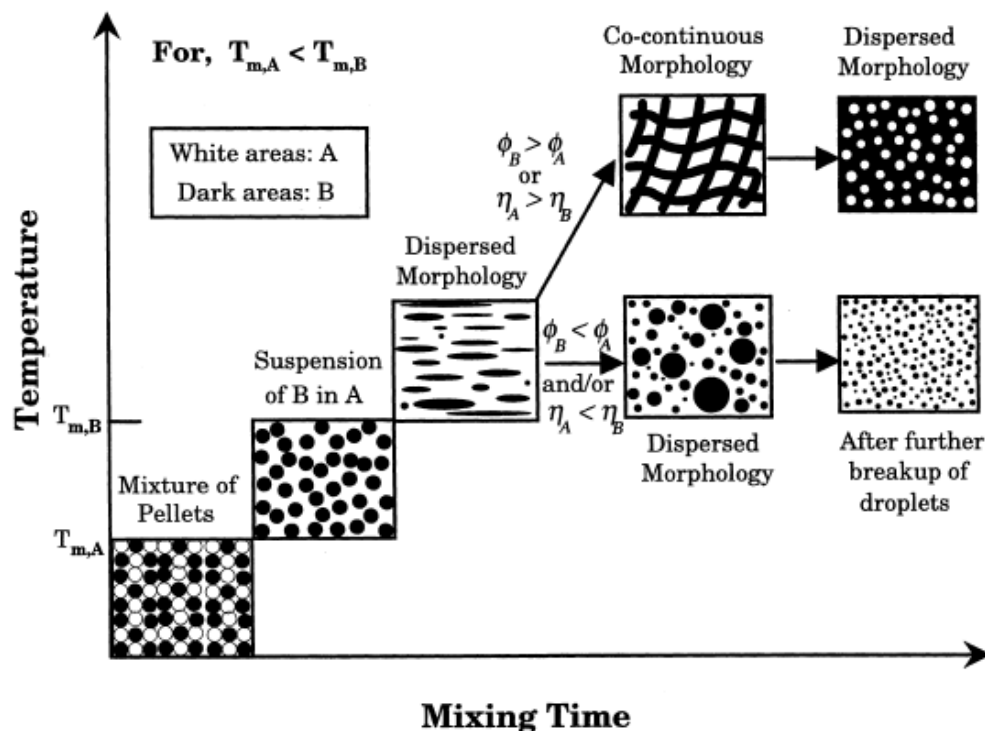


Figure 1.8 : Schéma décrivant l'évolution de la morphologie pendant le mélange à l'état fondu de deux polymères non miscibles dans un mélangeur interne, avec la température de fusion du polymère A supposée plus petite que celle du polymère B (Lee & Han, 1999).

He et al. ont trouvé que la co-continuité pouvait apparaître dans une large gamme de composition pour un temps de mélange faible et dans une gamme étroite pour des temps de mélange plus longs (He, Bu, & Zeng, 1997). Ils ont également démontré qu'après un long temps de mélange, la morphologie dépend davantage de la composition que du rapport des viscosités.

Sarazin et Favis ont démontré avec un mélange PCL/PS qu'il était en effet possible d'obtenir une co-continuité aux dimensions stables après 5 minutes de mélange avec un protocole expérimental rigoureux (Sarazin & Favis, 2007). Aussi, sous leurs conditions expérimentales, le pourcentage de co-continuité, la taille des phases et la distribution en taille de la morphologie co-continue ont été trouvés inchangés après un temps très long de mélange (Figure 1.9).

Il existe alors, pour des conditions de mélange précises, un état co-continu stable pour une composition donnée qui ressemble à la morphologie de transition énoncée précédemment par Lee et Han.

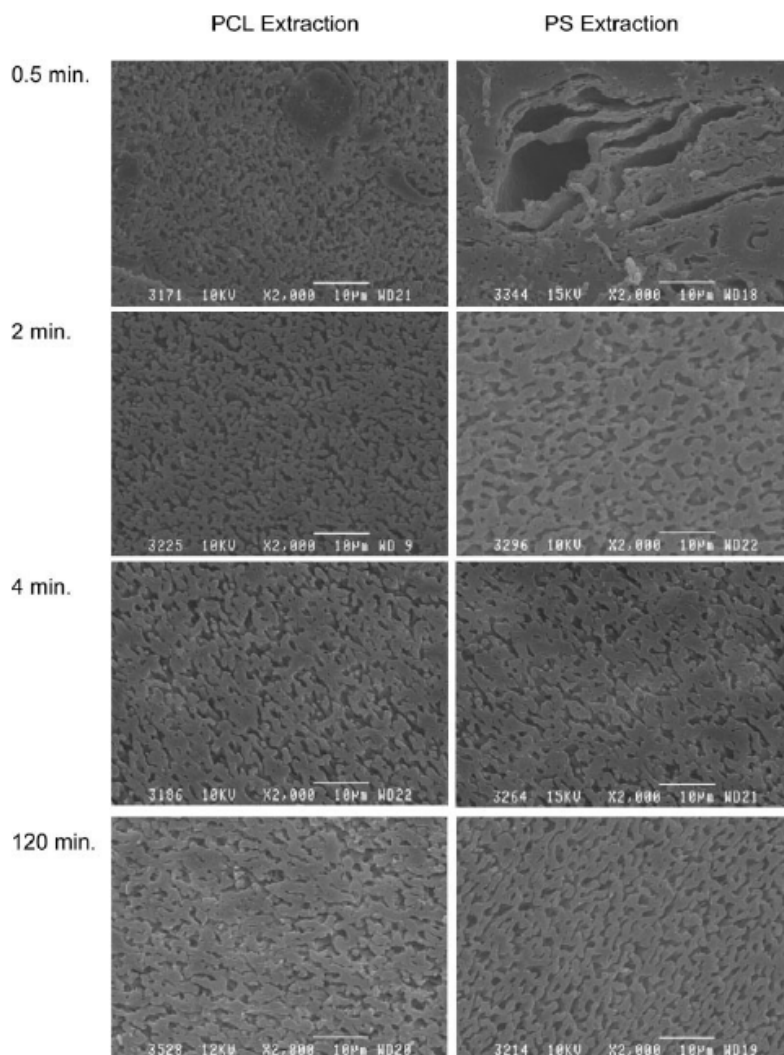


Figure 1.9 : Image MEB d'un mélange PCL/PS (50/50) pour divers temps de mélange à 140°C.

La bande blanche indique 10 µm (Sarazin & Favis, 2007).

1.1.5 Influence de la température de mélange

La température de mélange est un des paramètres majeurs influençant la coalescence et donc la co-continuité. Elle apparaît sur la Figure 1.8, présentée dans le paragraphe précédent, où il est possible de constater que la transition des phases va être directement reliée à ce paramètre. En effet, on constate un changement de morphologie si la température se trouve en-dessous, entre

ou au-dessus des températures caractéristiques des polymères (transition vitreuse ou température de fusion).

Sarazin et Favis ont montré que la température de mélange a un impact majeur sur l'intervalle des compositions associées à la co-continuité, ainsi que sur la taille de la microstructure (Sarazin & Favis, 2005). Ainsi, l'intervalle de composition pour un mélange PS/PCL (50/50) correspondant à la co-continuité, s'étend de 50-65%PS à 230°C jusqu'à 30-70%PS à 155°C (Figure 1.10).

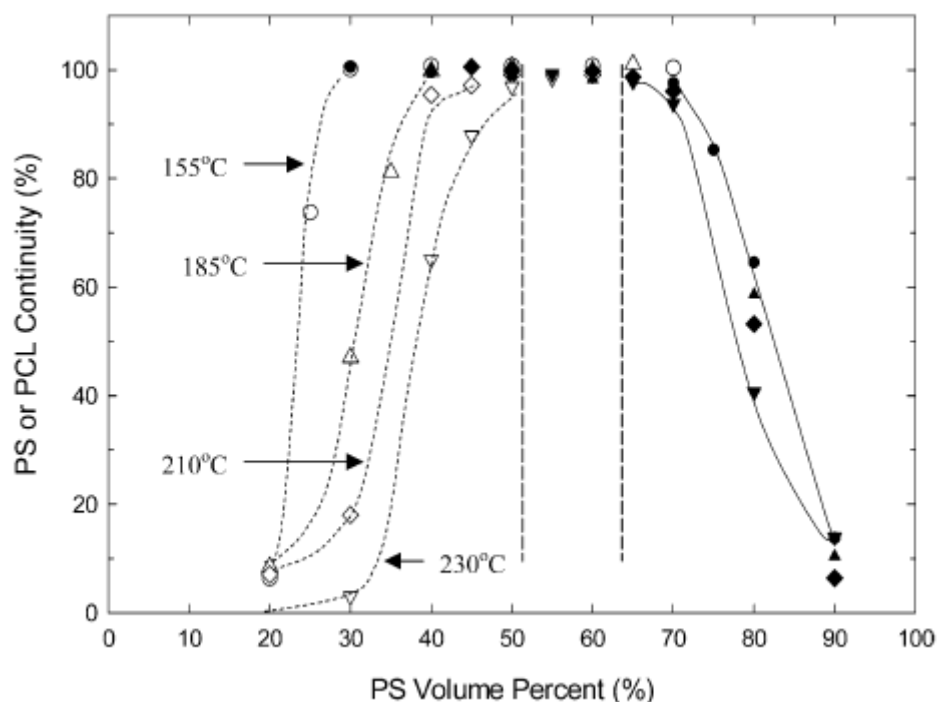


Figure 1.10 : Continuité du PS (pointillés) et du PCL (ligne continue) en fonction de la fraction volumique du PS dans le mélange. Les lignes sont dessinées pour guider le regard (Sarazin & Favis, 2005).

Pour ce même mélange la microstructure démontre une taille de phase (d_v) d'environ 8.5 μm à 230°C et 1.1 μm à 155°C (Figure 1.11).

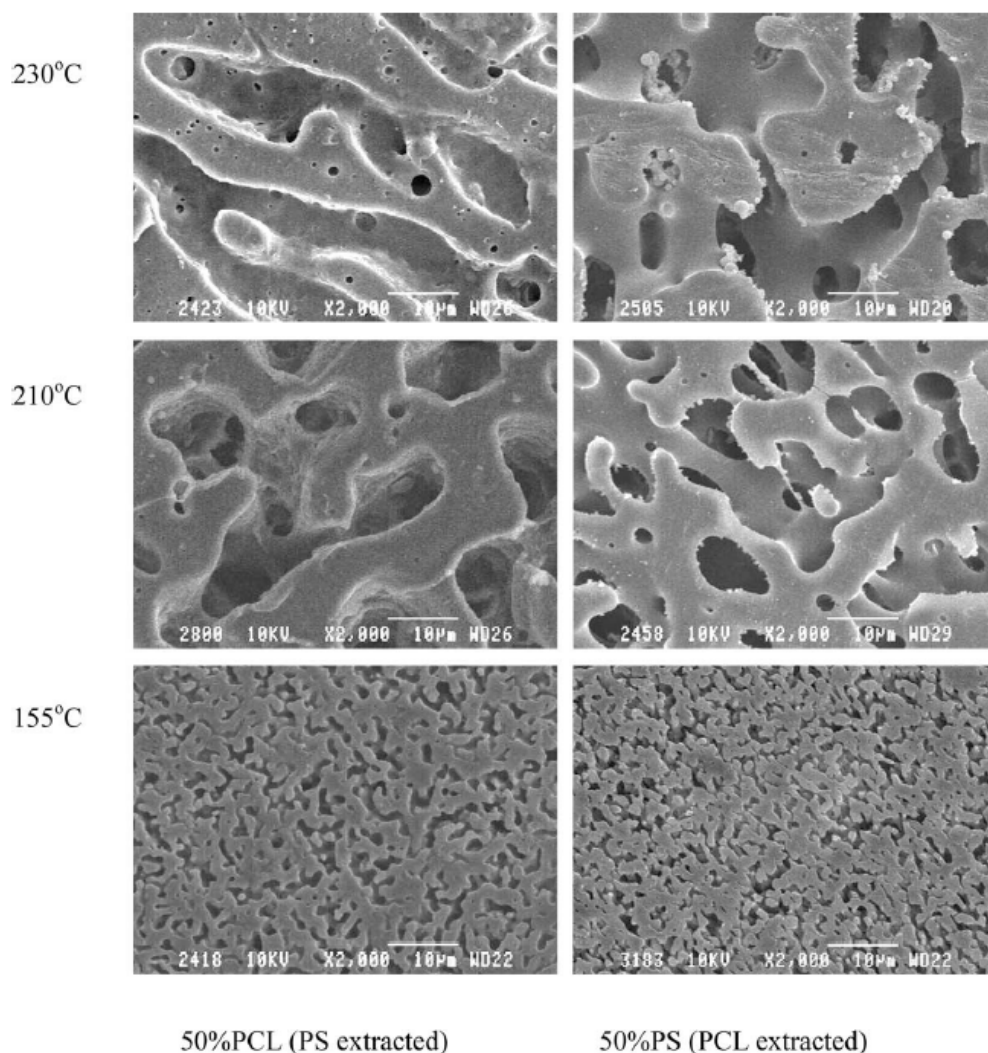


Figure 1.11 : Images MEB pour le mélange PCL/PS (50/50) après l'extraction du PS (à gauche) ou du PCL (à droite). La barre blanche indique 10 mm (Sarazin & Favis, 2005).

L'influence de la température sur l'intervalle de co-continuité est due à la fusion incomplète de la phase dispersée pendant le phénomène de coalescence à basse température. En effet, lorsque la température est basse on observe une augmentation de la viscosité des phases. Le PS étant plus sensible à la variation de température que le PCL (différence des viscosités), les observations du PS dans le PCL ou du PCL dans le PS ne vont pas être identiques.

Il est alors important d'inclure les paramètres reliés à la coalescence et à la séparation de phase dans le calcul de l'intervalle de co-continuité et pas seulement les viscosités absolues (Bourry & Favis, 1998).

1.1.6 Influence du recuit

Dans le cas du recuit d'un mélange co-continu, on se rapproche de l'effet de la température de mélange sauf, que cette fois-ci les contraintes de cisaillement ou d'élongation sont relativement faibles.

Yuan and Favis ont montré que la porosité augmente en fonction du temps de recuit et de la température (Figure 1.12) et cela de manière linéaire (Figure 1.13) (Yuan & Favis, 2005). Plus la température est élevée et le temps de recuit est long, plus la taille des porosités va être importante.

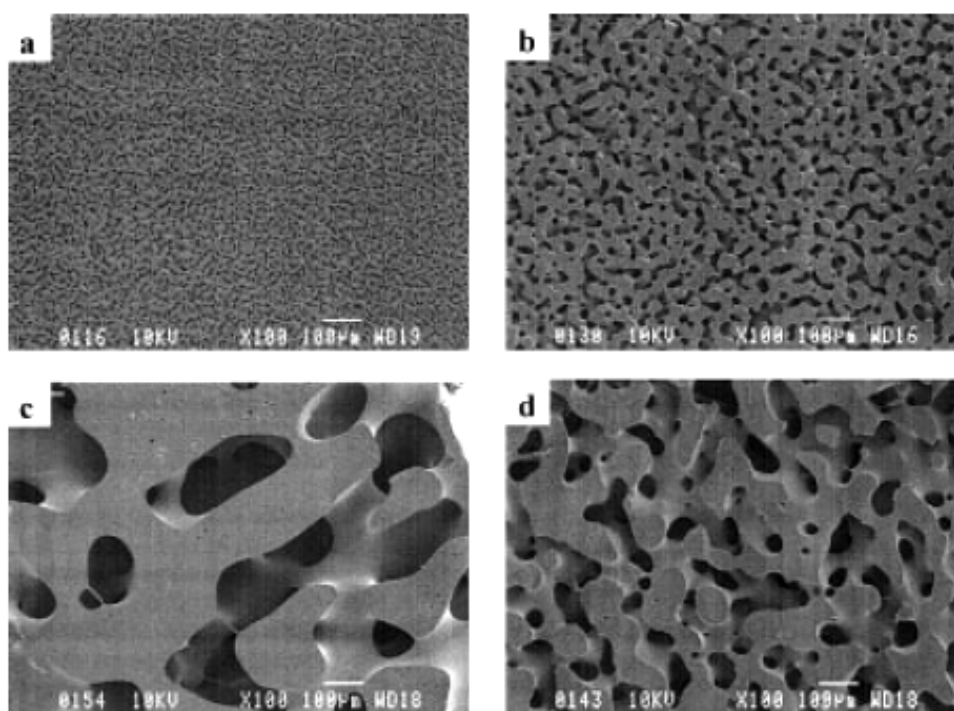


Figure 1.12 : Images MEB d'un mélange co-continu polystyrène/polyéthylène (50/50) : (a) sans recuit, (b) recuit à 180°C pendant 10 min, (c) recuit à 200°C pendant 30 min, et (d) recuit à 180°C pendant 30 min. (La barre blanche indique 100 µm) (Yuan & Favis, 2005).

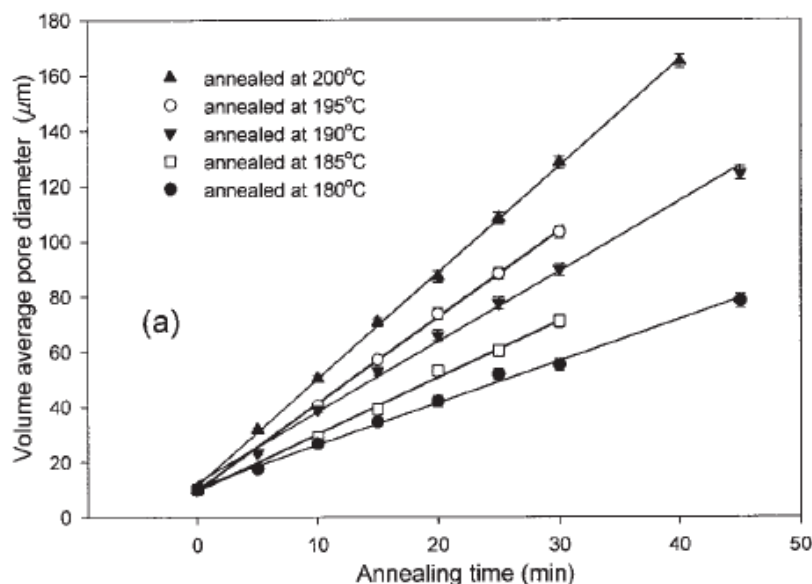


Figure 1.13 : Évolution de la taille des porosités d'un mélange polystyrène/polyéthylène (50/50) en fonction du temps de recuit pour différentes températures (Yuan & Favis, 2005).

Ils ont également porté une grande attention à l'observation de filaments dans les porosités (Figure 1.14) ce qui leur a permis d'expliquer le processus d'évolution de la microstructure lors du recuit (Figure 1.15) et d'en établir des relations (Yuan & Favis, 2005).

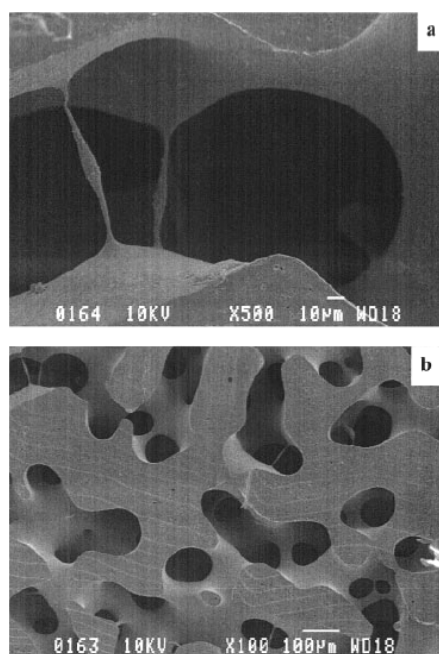


Figure 1.14 : Présence de filaments dans les porosités d'un mélange polystyrène/polyéthylène 50/50 recuit à 190°C pendant 45 min (Yuan & Favis, 2005).

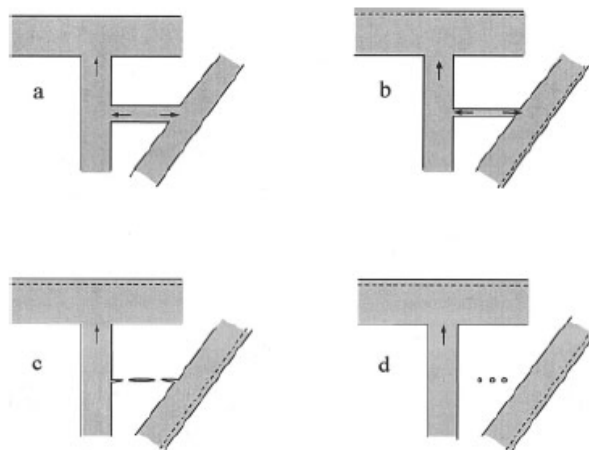


Figure 1.15 : Processus d'évolution de la microstructure co-continue pendant le recuit: (a) la branche la plus fine se vide dans les branches voisines ; (b) la branche devient ainsi de plus en plus fine, (c) la branche rompt ; et (d) les parties résiduelles se rétractent jusqu'à disparition (Yuan & Favis, 2005).

La différence de pression capillaire entraîne le phénomène d'écoulement des branches les plus fines vers les branches les plus épaisses. Aussi, plus une branche d'une phase peut briser facilement selon la théorie de Tomotika, plus ses branches vont épaissir rapidement.

Le modèle présenté dans l'article de Yan et Favis, explique les principaux phénomènes observés pendant le recuit statique : une dépendance linéaire en fonction du temps à température constante, un épaississement continu, l'influence des tensions interfaciales et du taux de cisaillement faible, et l'épaississement lui-même.

1.1.7 Ajout de compatibilisants

L'ajout d'agents interfaciaux est souvent utilisé dans les mélanges non miscibles de polymères afin de modifier les tensions de surface, de ralentir la coalescence, d'obtenir une microstructure plus fine et de tendre vers une meilleure compatibilité entre les phases et ainsi obtenir de meilleures propriétés mécaniques. Les compatibilisants sont généralement choisis afin de posséder des interactions avec chacune des phases afin de les lier et de les rendre plus stables entre elles. De plus, l'ajout d'un compatibilisant peut avoir un impact sur la taille des phases (variations, stabilité etc.) en fonction de sa composition chimique, mais également de sa masse

moléculaire. En effet, l'existence d'un poids moléculaire optimal est en relation avec la capacité du copolymère à migrer jusqu'à l'interface et avec ses affinités avec les différentes phases.

Galloway et al. ont étudié l'influence de copolymères à blocs symétriques polystyrène-polyéthylène dont la masse moléculaire varie de 6 à 200 kg/mol sur des mélanges de polymères co-continus 50/50 (w/w) polystyrène (PS)/polyéthylène haute densité (PEHD) (Galloway, Jeon, Bell, & Macosko, 2005). Ils ont trouvé que le copolymère de 40 kg/mol présente des résultats remarquables dans la réduction de la taille (Figure 1.16) et dans la stabilisation du mélange pendant le recuit (Figure 1.17). L'ajout en faible quantité des copolymères de 6, 100 ou 200 kg/mol, quant à lui, ne réduit pas la taille des phases significativement, mais il permet de diminuer le taux d'épaississement pendant le recuit (Figure 1.17).

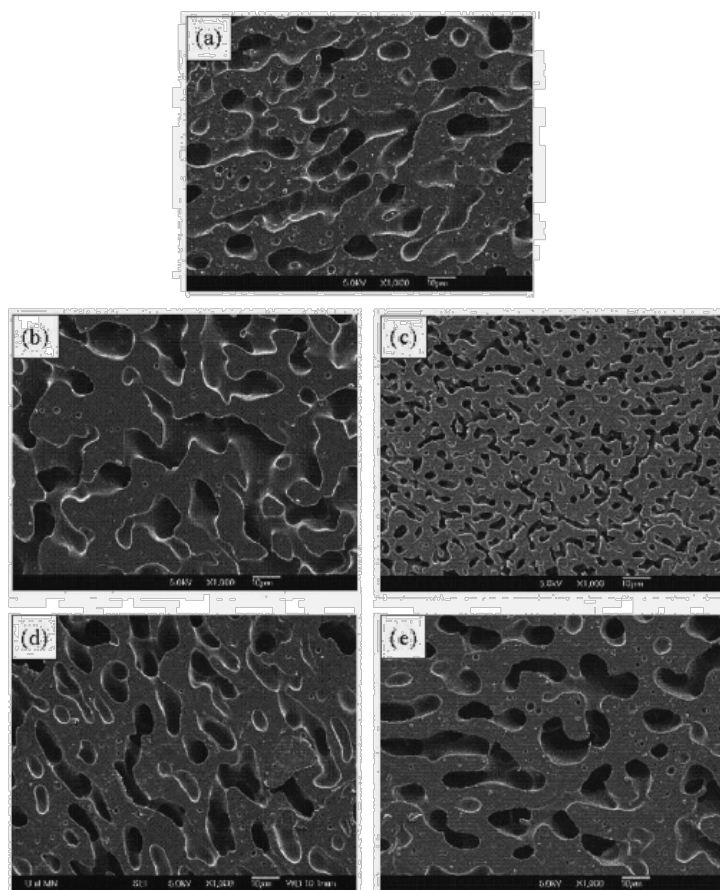


Figure 1.16 : Images MEB des mélanges 50/50 PS/PE avec 1% de copolymères à blocs PS-b-PE après 10 minutes de mélanges à 170°C et 50 rpm : (a) sans copolymère, (b) $M_w = 6$ kg/mol, (c) $M_w = 40$ kg/mol, (d) $M_w = 100$ kg/mol et (e) $M_w = 200$ kg/mol (échelle = 10 μ m) (Galloway, et al., 2005).

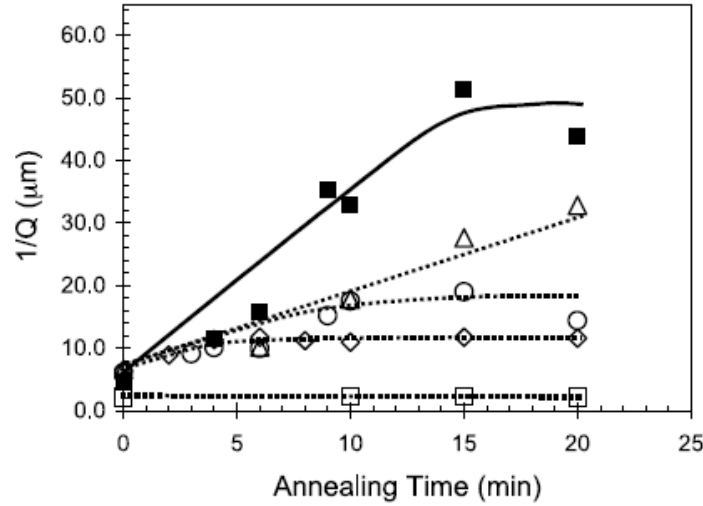


Figure 1.17 : La réciproque de l'aire interfaciale spécifique, $1/Q$, dans les mélanges 50/50 PS/PE en fonction du temps de recuit. Le ■ représente le mélange sans copolymère. Les symboles vides concernent les mélanges avec 1% de copolymères PS-PE pour différentes masses moléculaires : □-6 kg/mol, Δ-40 kg/mol, ◇-100 kg/mol et ○-200 kg/mol. Les lignes sont présentes pour guider le regard (Galloway, et al., 2005).

1.1.8 Calcul et caractérisation de la co-continuité

Le taux de co-continuité d'une phase « i » est donné par l'équation suivante après extraction par solvant de cette dernière :

$$\% \text{ continuity of PS} = \frac{m_{s,ini} - m_{s,fin}}{m_{s,ini}} \times \frac{m_{PS \text{ in blend}}}{m_{blend}} \times 100 \quad (19)$$

avec $m_{s,ini}$ la masse de l'échantillon avant extraction, $m_{s,fin}$ la masse de l'échantillon après extraction, $m_{PS \text{ in blend}}$ la masse du PS dans le mélange initial et m_{blend} la masse totale du mélange initiale. La co-continuité est généralement considérée à partir de 90-95%.

Une des deux phases polymères ayant été extraite, il est alors possible de caractériser cette porosité par différentes méthodes : l'analyse d'image (IA), l'adsorption/désorption d'azote (BET) et l'intrusion au mercure (PIM) (Salehi, Sarazin, & Favis, 2008).

1.1.8.1 Analyse d'image (AI)

L'analyse d'image est une méthode non destructive permettant la caractérisation de matériaux poreux à partir d'une image contrastée en 2-D. Pour les particules dispersées dans une

matrice, cette méthode permet de calculer les diamètres moyens en nombre (d_n) et les diamètres moyens en volume (d_v) (Favis & Chalifoux, 1988). En ce qui concerne les mélanges co-continus, il est possible de déterminer les aires interfaciales ainsi que le diamètre moyen des porosités.

La méthode consiste à déterminer le périmètre total des porosités sur une section de dimensions connues. Pour ce faire, il est indispensable que les images soient les plus contrastées possibles et que les dimensions des porosités soient largement supérieures au pixel. Les images, souvent réalisées au microscope électronique à balayage (MEB), possèdent ainsi une certaine profondeur de champ. Il est alors important de « binariser » l'image afin de distinguer nettement les porosités du polymère restant (exemple Figure 1.18). Le filtre de détection du périmètre (« edge detection filters »), après calibration de l'échelle, permet alors de calculer les périmètres des porosités (Galloway, Montminy, & Macosko, 2002). À partir de ces données, la théorie de la stéréologie (Underwood, 1970) démontre que les aires interfaciales par unité de volume sont proportionnelles aux périmètres par unité de surface :

$$\frac{A}{V} = \frac{P'}{S} \quad (20)$$

Le diamètre moyen des cavités, quant à lui, est calculé à partir du volume de porosité V_p et de l'aire interfaciale spécifique S (Li & Favis, 2001).

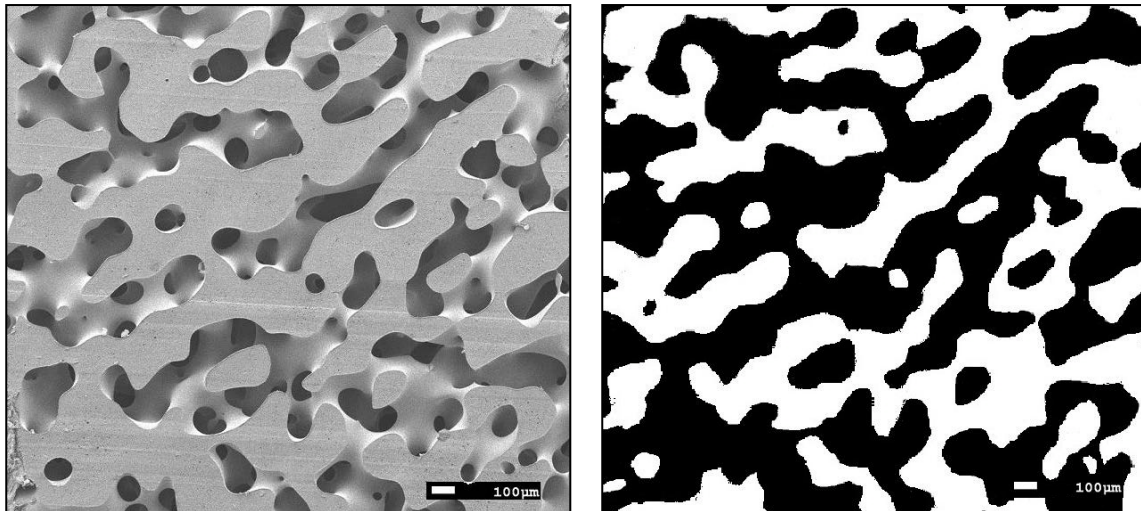


Figure 1.18 : a) Image MEB d'un PLA poreux et b) sa binarisation associée pour l'analyse d'image (A-L. Esquirol, résultats non publiés à ce jour).

Les résultats de cette méthode doivent être obtenus à partir de la moyenne d'un minimum de trois répétitions d'analyse par cas.

1.1.8.2 Adsorption/désorption d'azote : théorie de Brunauer-Emmett-Teller (BET)

Cette technique consiste à mesurer le volume total d'azote adsorbée par la surface d'un échantillon pour former une couche mono-moléculaire, approximé par l'équation suivante (Brunauer, Emmett, & Teller, 1938) :

$$\frac{p}{p^0 \left[v \left(1 - \left(\frac{p}{p^0} \right) \right) \right]} = \frac{1}{v_m c} + \frac{c-1}{v_m c} \frac{p}{p^0} \quad (21)$$

avec v_m le volume de gaz à température et pression standard (STP) requis pour adsorber une couche mono-moléculaire, v le volume de gaz adsorbé expérimentalement à STP, p la pression partielle de vapeur de gaz adsorbé en équilibre avec la surface à 77.4K (température de l'azote liquide), p^0 la pression de saturation du gaz adsorbé et c la constante sans dimension reliée à l'enthalpie d'adsorption.

Ainsi, en traçant la courbe : $p/[p^0(v(1 - (p/p^0)))]$ en fonction de p/p^0 une droite de pente $(c - 1)/(v_m c)$ et d'ordonnée à l'origine $1/(v_m c)$ est obtenue. Si $c \gg 1$, l'ordonnée à l'origine tend vers 0 et l'équation 21 devient :

$$v_m = v \left(1 - \left(\frac{p}{p^0} \right) \right) \quad (22)$$

Cette simplification permet la détermination de v_m avec une seule pression expérimentale. L'aire de surface peut alors être déduite :

$$S = v_m N a / V_M \quad (23)$$

avec N le nombre d'Avogadro, a l'aire d'une molécule d'azote adsorbée ($16,2 \times 10^{-20} m^2$) et V_M le volume molaire du gaz.

Cette méthode simple permet la caractérisation de la morphologie avec une bonne précision des mesures (Li & Favis, 2001).

1.1.8.3 Intrusion au mercure (PIM)

Cette troisième méthode mesure le diamètre des porosités par la pénétration d'un volume de mercure dans l'échantillon poreux en comparaison avec une référence. Le traitement des données est fait à partir de l'équation de Washburn (Washburn, 1921):

$$Pr = -2\sigma\cos\theta \quad (24)$$

avec P la pression appliquée, r le rayon des pores, σ la tension de surface du mercure avec l'air et θ l'angle de contact.

Cette technique est limitée aux porosités comprises entre 7.5 nm – 75 μ m et il peut y avoir des déformations liées aux hautes pressions.

1.2 Polymères poreux préparés à partir de mélanges de polymères co-continus

Récemment, de plus en plus d'intérêt est porté aux polymères poreux préparés à partir des mélanges de polymères co-continus. Cette voie est très intéressante puisque l'extraction par solvant d'une des phases permet d'obtenir une porosité interconnectée dont la taille peut être contrôlée de quelques micromètres à plus de 500 μ m pour certains mélanges. La taille des porosités peut être contrôlée par les différents paramètres énoncés dans les paragraphes précédents. Lorsque ces derniers sont bien contrôlés, il est ainsi possible d'augmenter linéairement la taille des porosités par recuit du mélange initial.

Dans la nature, les structures poreuses possèdent souvent un gradient de porosité, tel que le bois, les graines de plantes, les coquilles d'œufs, les os, la peau etc. Ces morphologies imitant le vivant intéressent de près l'ingénierie biomédicale. De la libération de médicaments à la régénération cellulaire, les polymères poreux semblent prometteurs. On peut également trouver d'autres applications telles que celles associées à des réactions catalytiques, des batteries lithium-ion, des systèmes de filtrations, etc.

1.2.1 Techniques de fabrication de structures poreuses

La réalisation de structures poreuses par le biais des mélanges de polymères consiste à extraire sélectivement une ou plusieurs des phases à l'aide de solvants sélectifs (Figure 1.19 et 1.20.a). Par exemple, pour un mélange binaire PS/PLLA co-continu, la phase PS peut être extraite au cyclohexane à l'aide d'un soxhlet à 50-60°C pendant une semaine (Xiang, Sarazin, & Favis, 2009). Ainsi, une structure polymère poreuse peut être obtenue.

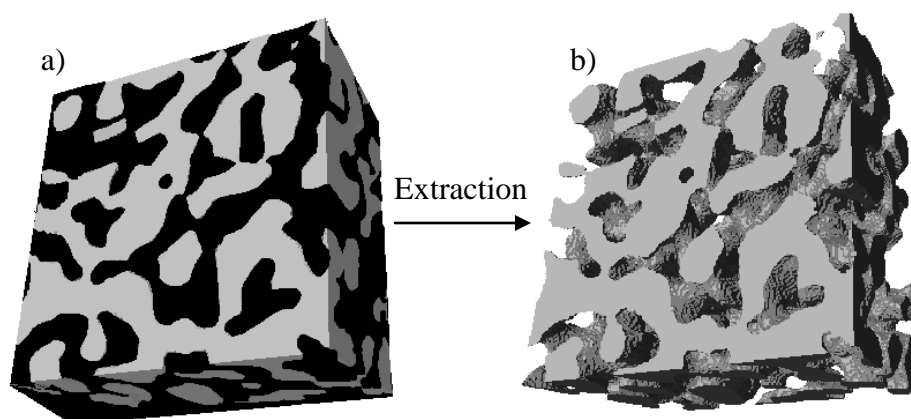


Figure 1.19 : Exemple d'extraction d'une phase polymère pour un mélange binaire d'un polymère A (en noir) et d'un polymère B (en gris) : a) structure 3-D du mélange et b) structure 3-D du polymère B poreux après extraction de la phase A

Il existe également d'autres méthodes permettant la réalisation de structures polymères poreuses (Zhang, 2011) :

- Mikos et al. (Mikos, Sarakinos, Leite, Vacanti, & Langer, 1993; Mikos et al., 1994) ont développé la méthode du « solvent-casting and particulate leaching » dans laquelle une grande concentration d'un polymère en solution est mélangée avec un porogène. Ce dernier peut être des particules de sel, de sucre, de glace ou encore des microsphères de paraffine. Ainsi, après évaporation du solvant et dissolution du porogène, un polymère poreux est obtenu (Figure 1.20.b). Cependant, bien que de récentes études démontrent un meilleur contrôle de la porosité (Hu et al., 2013), cette technique peut retenir des solvants toxiques utilisés pour l'extraction et la taille des diamètres des porosités est limitée en-dessous de 150 μm (Kazemi-Tutunchi, Wei, Shirwaiker, & Dong, 2012).

- La séparation de phase induite par une variation de température (SPIT) est une technique largement étudiée (Figure 1.20.c). Elle consiste à faire diminuer la température d'un système composé d'un polymère organique en solution pour arriver à une séparation de phase. L'avantage de cette technique est qu'elle peut se combiner avec d'autres techniques (par exemple avec le « particulate leaching »).

- Le moussage avec un gaz (« gas foaming ») est une autre méthode très utilisée. Cette méthode est particulièrement intéressante pour former des structures très poreuses (95% de porosité, Figure 1.20.d). Elle consiste à exposer le polymère fondu à une haute pression (ex : 800 psi) de

dioxyde de carbone ou d'azote. Une fois que le polymère est saturé en gaz, la pression est relâchée. Le désavantage de cette méthode est que le polymère obtenu contient des pores fermés.

- La fabrication de forme libre solide (SFF) permet également la formation de polymères poreux et co-continus (Figure 1.20.e) par l'impression de gels en 3-D ou encore par l'élimination sélective de parties gélifiées au laser pour les techniques les plus récentes. Depuis l'apparition de ces premières machines en 1987, différentes technologies SFF ont été développées (I3D : impression en 3-D, MDF : modelage par dépôt en fusion, IJE : impression par jet d'encre, SL : stéréolithographie et FSL : frittage sélectif par laser).

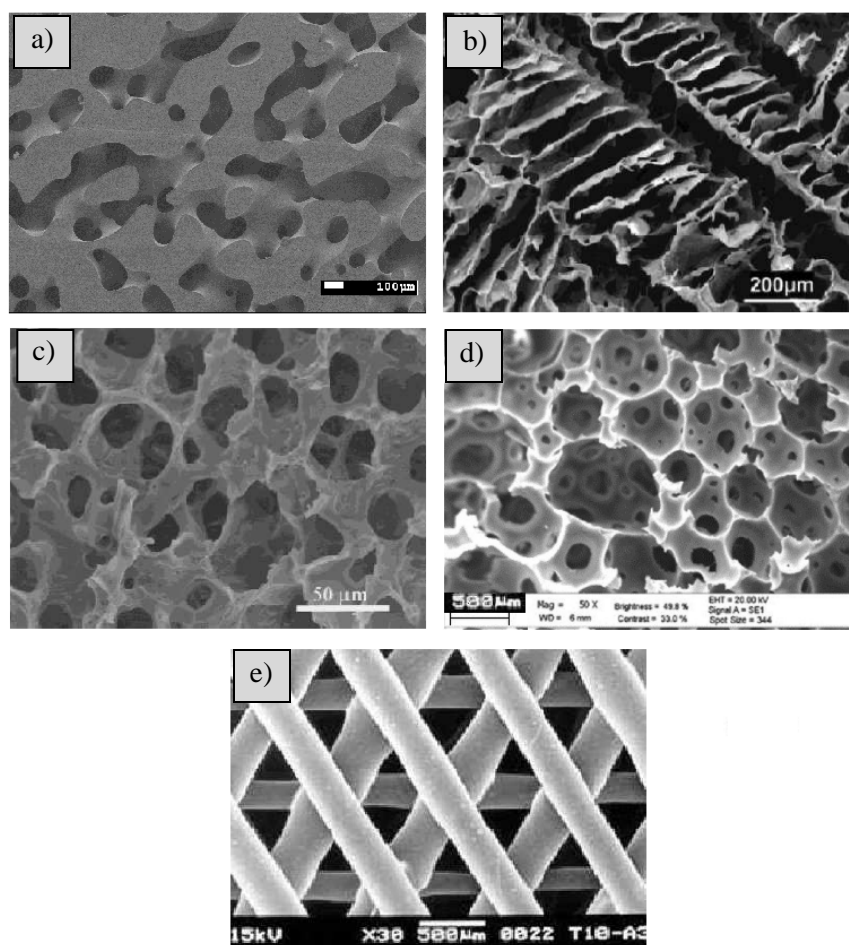


Figure 1.20 : Images MEB de polymères poreux réalisées par différentes méthodes : a) extraction d'un des polymères dans un mélange co-continu binaire (barre blanche à 100 µm) ; b) « solvent-casting and particulate leaching » (barre blanche à 200 µm) ; c) SPIT (barre blanche à 50 µm); d) « gas foaming » (barre blanche à 500 µm) (Colosi et al., 2012) et e) FFS (barre blanche à 500 µm) (Zhang, 2011).

1.2.2 Contrôle de la taille des porosités

Le contrôle de la taille des porosités va dépendre des paramètres présentés dans la partie sur les polymères co-continus (1.1 Mélange de polymères non miscible co-continus). La formation de la porosité correspond simplement à l'élimination d'une ou plusieurs des phases, la phase restante demeurant intacte.

Pour réaliser un polymère poreux, il faut donc prendre en compte les propriétés intrinsèques de chacune des phases (viscosités, élasticités et tensions interfaciales) et les paramètres de mélange (appareil utilisé, température, temps et torque). Aussi, dépendamment du mélange choisi, il sera possible d'obtenir une porosité de quelques μm à plus de 500 μm (Figure 1.21).

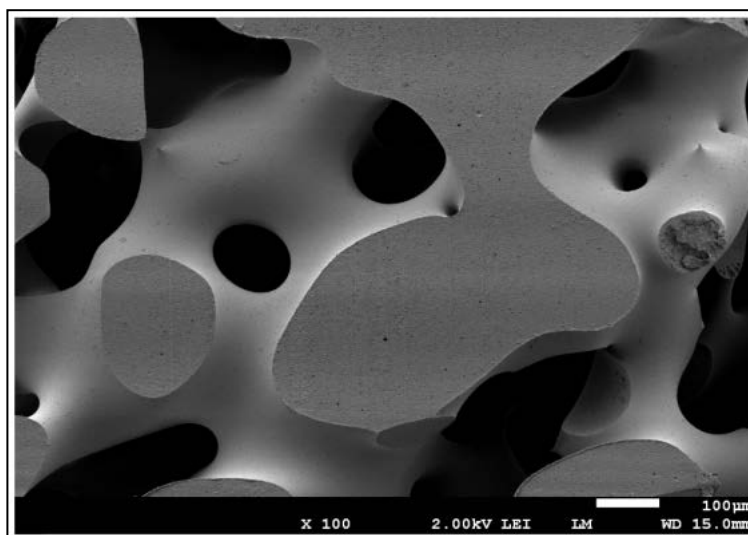


Figure 1.21 : Image MEB de PLA poreux. La barre blanche correspond à 100 μm (A-L. Esquirol, résultats non publiés à ce jour).

1.2.3 De nombreuses possibilités

L'utilisation de mélange de polymère et le contrôle de la morphologie au fil des années ont permis d'explorer de nombreuses possibilités dans le domaine des polymères poreux, telles que le micro-moulage (Zhang & Wang, 2007), la réalisation de structures ultra-poreuses (Roy, Sarazin, & Favis, 2006; Virgilio, Sarazin, & Favis, 2011) et de gradients de porosité (Yao, Zhang, & Zhou, 2009).

1.2.4 Applications

Les chapitres précédents ont montré l'étendue des possibilités des mélanges de polymères non miscibles co-continus et des structures poreuses résultantes. Ces avancées ont intéressé un grand nombre de domaines d'expertise et plus particulièrement celui du génie biomédical et tissulaire.

1.2.4.1 Contrôle de la libération de médicaments

Les médicaments conventionnels administrés par voie orale agissent de manière peu contrôlée. En effet, le corps va recevoir une concentration importante des molécules concernées juste après l'ingurgitation, mais elle va ensuite chuter brutalement (observation d'un pic de concentration). Cet effet n'est pas idéal puisque la dose sera probablement trop forte à un temps t_1 puis insuffisante à un temps $t_2 > t_1$. Les recherches se sont alors intéressées aux systèmes permettant la libération contrôlée de médicaments. C'est à partir de cette problématique que les matrices poreuses composées de biopolymères ont été étudiées dans ce domaine.

Sarazin et al. (Xiang, et al., 2009) ont associé la technique de modification de surface LbL (« layer by layer polyelectrolyte ») permettant de contrôler la charge de la surface et de favoriser ainsi l'adsorption des médicaments, avec une stratégie de pores partiellement fermés pour contrôler la libération initiale et finale des médicaments. Un polymère poreux de PLA a été utilisé issu d'un mélange co-continu PLA/PS (Figure 1.22). Le composant utilisé à la place d'un médicament était de l'albumine de sérum bovin (ASB).

Différents échantillons ont été réalisés pour étudier l'influence de chacun des paramètres (la déposition couche par couche (CpC) et la fermeture partielle des cellules). Le meilleur résultat est le L5C (Figure 1.23) qui a subi cinq dépositions par CpC et sa structure est fermée partiellement avec une légère ouverture au niveau d'un angle (aire ouverte de 2%) (Figure 1.23.a). On remarque que la libération de ASB se fait sur une plus grande plage de temps en comparaison avec les échantillons n'ayant subi qu'un des deux traitements.

L'association de ces techniques permet d'étendre jusqu'à 120 fois le temps de libération de ASB (Figure 1.23).

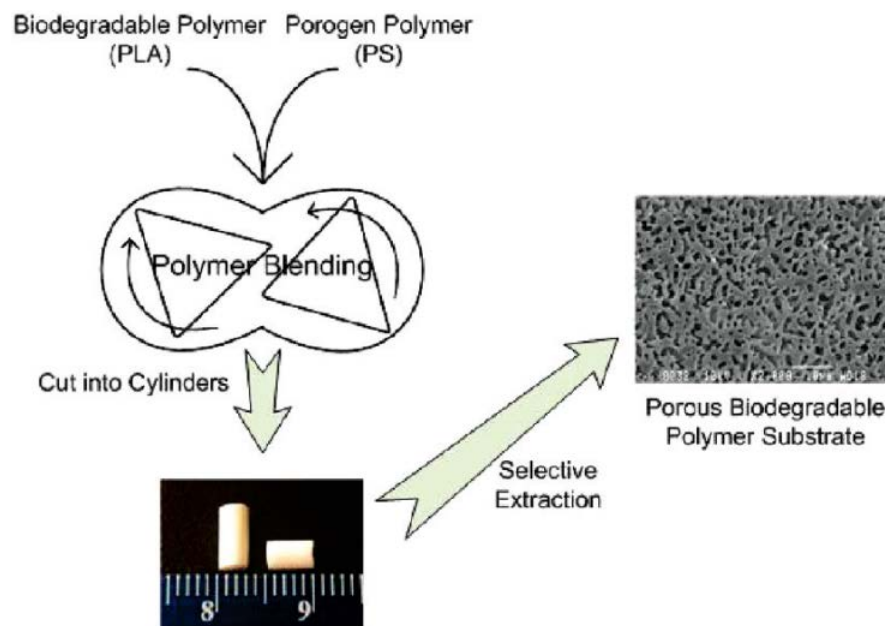


Figure 1.22 : Schéma et image MEB de la réalisation du mélange PS/PLA et de la structure poreuse PLA obtenue respectivement (Xiang, et al., 2009).

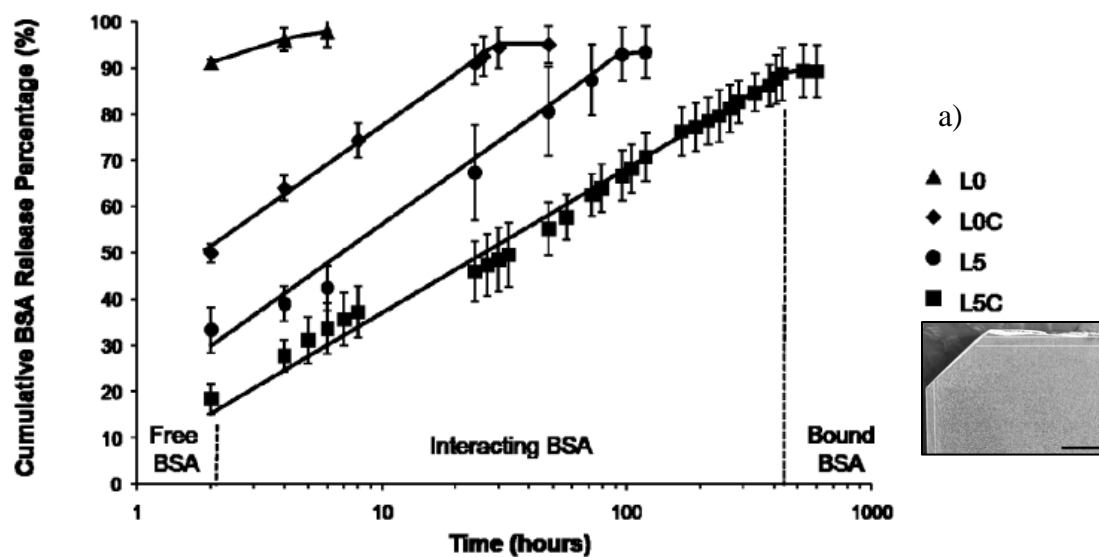


Figure 1.23 : Effet des couches poly-électrolytes et de la stratégie de fermeture partielle de cellules : L0 = structure poreuse sans traitement, L0C structure poreuse avec fermeture partielle dont une ouverture dans un angle (aire ouverte de 2%), même chose pour L5C sauf que cet échantillon a subit également cinq dépositions CpC, L5 a simplement subit cinq dépositions CpC et l'image a) montre une aire ouverte de 2% (Xiang, et al., 2009).

1.2.4.2 Régénération cellulaire

Les polymères poreux peuvent servir de matrices temporaires en trois dimensions pour l'infiltration et la prolifération de cellules dans le domaine de la médecine régénérative. Leurs avantages sont leur porosité interconnectée, la possibilité de contrôler les dimensions moyennes de la porosité en fonction des cellules concernées (Tableau 1.1) et la possibilité d'utiliser un matériau biodégradable (exemple PLA).

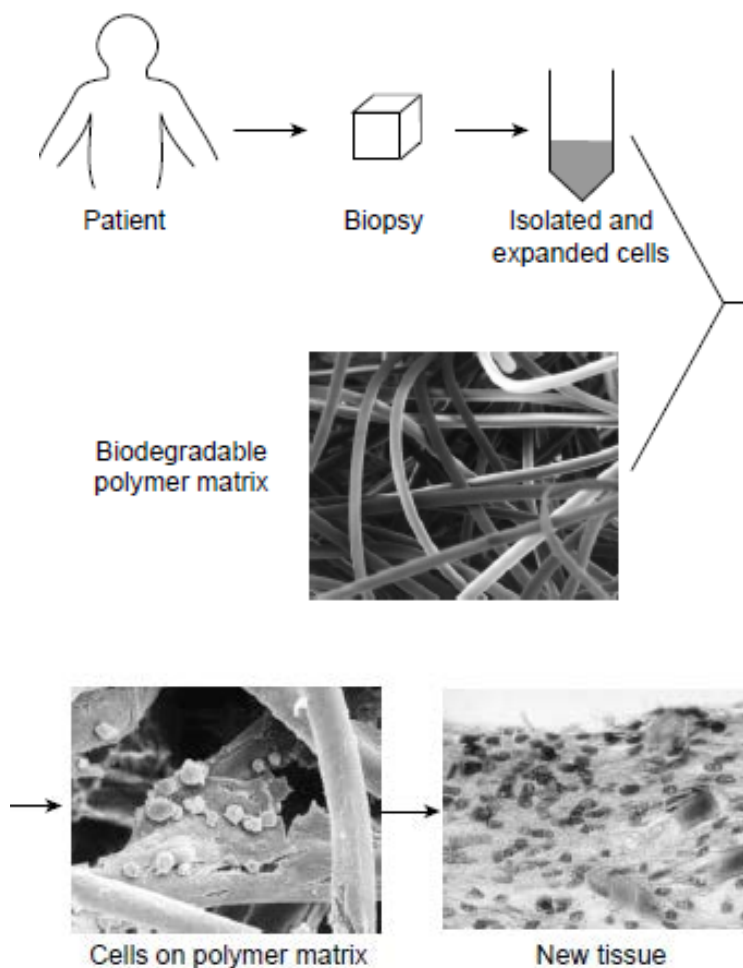


Figure 1.24 : Approche de l'ingénierie tissulaire du remplacement d'organe par la culture cellulaire (Kim & Mooney, 1998).

Tableau 1. 1 : Taille optimale des pores pour la régénération tissulaire (Sarazin, Roy, & Favis, 2004).

Tissue ingrowth and regeneration	Optimum pore size (μm)
Ingrowth of fibroblasts	Close to 20 5–15
Ingrowth of hepatocytes	Close to 20
Ingrowth of cells	20–60
Regeneration of skin	20–125 20–150
Bone regeneration	100–150 100–250 200–400 100–350 75–150 Less than 100
Osteoid ingrowth	40–100
Neovascularization	5

La régénération de tissus peut être effectuée *in vivo* ou *in vitro*. Pour ce faire, dans les deux cas, les structures fabriquées à partir de matériaux biocompatibles (préférentiellement) sont préalablement injectées de cellules mères. Ces dernières peuvent ainsi se régénérer dans le milieu poreux ainsi que remplacer petit à petit les parties de polymères dégradés pour finalement ne laisser que le tissu (Figure 1.24) (Kim & Mooney, 1998).

Les propriétés mécaniques et les propriétés de surface sont également à prendre en compte lors de la fabrication de matrices puisque, de manière générale, elles doivent correspondre avec les propriétés de la zone à reconstituer. Dans le cas où ces propriétés ne correspondent pas, il faut alors les adapter. C'est ce qu'ont fait Marra et al. (Marra, Szem, Kumta, DiMilla, & Weiss, 1999) en ajoutant de l'hydroxyapatite à leur mélange et Deng et al. en modifiant les charges de surface (Deng et al., 2010).

1.2.4.3 Electrolyte polymères pour batteries Li-ion

Subramania et al. (Subramania, Sundaram, & Kumar, 2006) ont développé un électrolyte polymère microporeux pour batterie lithium par le procédé d'inversion de phase. La présence des polymères fluorure de vinylidène-co-hexa-fluoropropylène (PVdF-co-HFP) et polyacrylonitrile (PAN) permet une bonne compatibilité et une amélioration des propriétés mécaniques qui représentent généralement un problème pour cette application. Le polymère poreux (Figure 1.25) est trempé 18h dans un gel pour permettre la conduction ionique. L'épaisseur du film est de 150-200 μm .

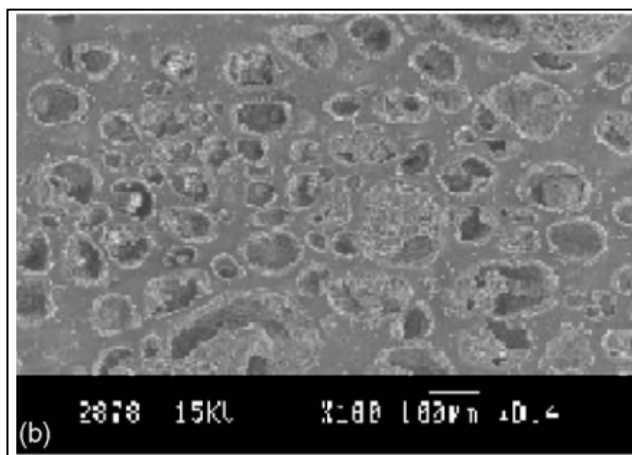


Figure 1.25 : Membrane polymère micro-poreuse (Subramania, et al., 2006).

1.2.4.4 Autres applications

En plus du domaine pharmaceutique et de support pour électrolyte les matériaux possédant une porosité interconnectée peuvent trouver des applications pour le matériel chromatographique (Zou, Huang, Ye, & Luo, 2002), servir de catalyse pour les réactions biochimiques ou chimiques (Rolison, 2003), ou encore comme composants pour appareils électroniques (Wu, Lu, & Chuang, 2005).

Gong et al. ont étudié l'association des structures poreuses co-continues polymères PLLA avec un hydrogel (agar) afin d'optimiser la régénération de cellules provenant du cartilage (Gong et al., 2007). Le polymère joue le rôle de renfort mécanique et l'hydrogel de milieu idéal pour la régénération des cellules. Cependant, à ce jour aucun polymère co-continu poreux n'a été utilisé comme moule pour la formation de structures poreuses gélifiée ou autre (ex. élastomères réticulés).

1.3 Hydrogels poreux

Un hydrogel est un solide mou pouvant contenir plus de 99 wt% d'eau (grâce à sa nature hydrophile) dans un réseau tridimensionnel de molécules polymères enchevêtrées et/ou réticulées. Ces points de réticulation peuvent être physiques ou chimiques (voir Section 1.3.1). En fonction de leurs propriétés viscoélastiques, ils sont soit « faibles » ou « forts » (Ferry, 1980). De la même manière que les polymères, on peut trouver des hydrogels synthétiques ou naturels. Dans ce document, on s'intéresse particulièrement aux hydrogels naturels (alginate et agar) possédant une porosité contrôlée et co-continue. Cette caractéristique interpelle particulièrement le domaine biomédical avec la régénération et la culture cellulaires, mais également des applications telles que la catalyse ou encore la filtration.

1.3.1 Familles d'hydrogels

Dans la vie courante on observe régulièrement des transitions de matériaux d'un état liquide vers un état solide. C'est exactement ce qui se passe pour les hydrogels comme le Jello®. Ce phénomène est appelé gélification ou encore transition sol-gel. Il s'agit du passage d'une solution aqueuse (eau ou alcool) dans laquelle sont dissoutes des chaînes polymères (appelé « sol ») vers un ensemble gélifié obtenu par la ramification des macromolécules. Le point critique pour lequel le gel commence à apparaître est appelé le « point de gélification ».

De nombreux paramètres permettent de différencier les hydrogels. Ils peuvent être physiques ou chimiques, termes qui correspondent à la nature des liens permettant la gélification. Les liens physiques correspondent aux enchevêtrements mécaniques, tel que les formations de doubles ou triples hélices (agar, gélatine, etc.) ou encore les liaisons ioniques (alginate, xanthan, etc.). Pour les liens chimiques il y a création de liaisons covalentes entre les chaînes polymères (polydiméthyle siloxane, gels polyesters, etc.) (Figure 1.26). Les hydrogels chimiques sont dits « forts », puisqu'ils possèdent des liens solides, tout comme certains hydrogels physiques (Figure 1.27). Cependant, ces derniers peuvent également être « faibles », auquel cas, les liens sont plus fragiles, mais réversibles (Ferry, 1980) (Figure 1.28).

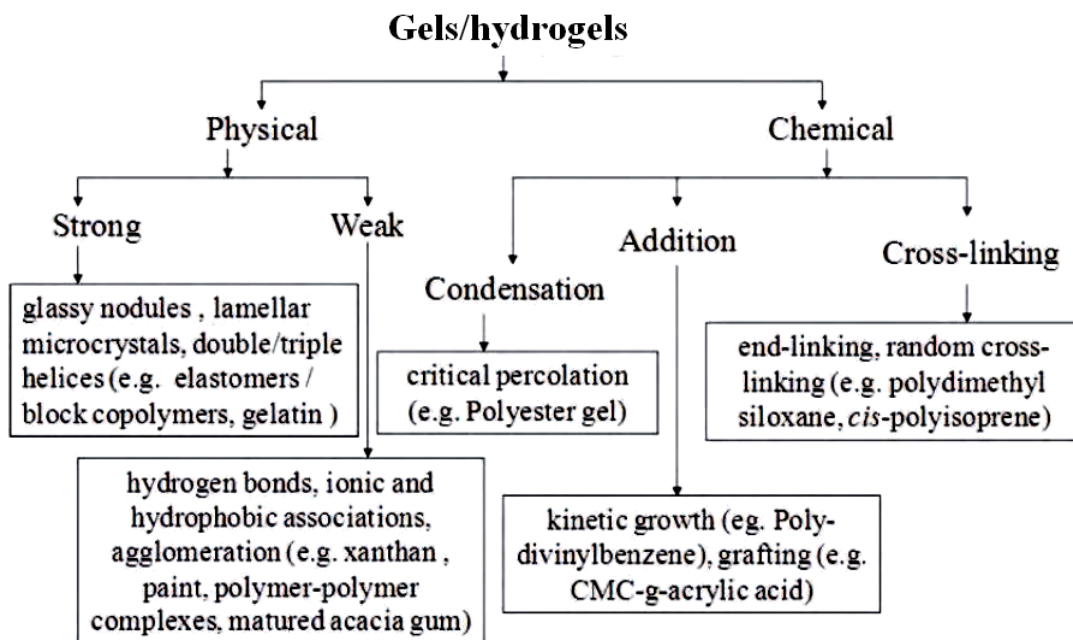


Figure 1.26 : Organisation générale des hydrogels en fonction de la nature des points de réticulation (Syed, Gulrez, & Glyn, 2011).

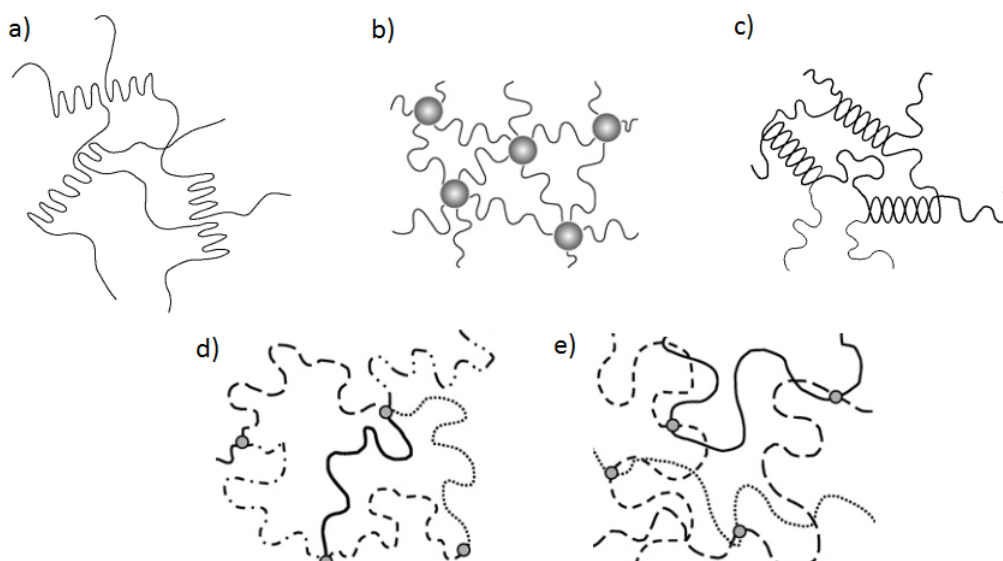


Figure 1.27 : Exemples de gels « forts » physiques : a) microcristaux lamellaires, b) nodules vitreux et c) doubles hélices; chimiques : d) réticulation en bout de chaînes et e) réticulation aléatoire (les différents types de ligne représentent différentes chaînes) (Rubinstein & Colby, 2003).

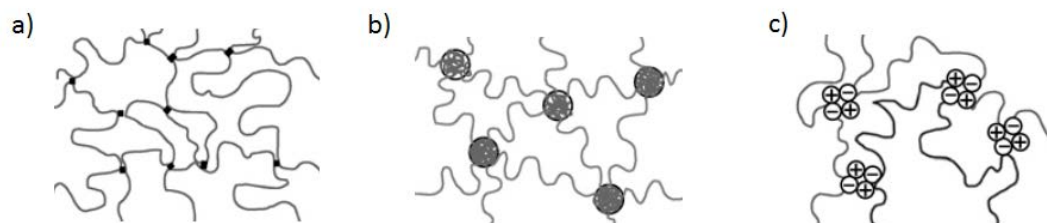


Figure 1.28 : Exemple de gels physiques « faibles » : a) liaisons hydrogènes, b) micelles de copolymères blocs et c) associations ioniques (Rubinstein & Colby, 2003).

Les polymères composant les hydrogels peuvent également être naturels ou synthétiques (Tableau 1.2). Dans le domaine biomédical, les hydrogels naturels présentent de nombreux avantages (Peppas, Huang, Torres-Lugo, Ward, & Zhang, 2000) tels que :

- la biocompatibilité (composition imitant les cellules biologiques avec une proportion pouvant aller jusqu'à plus 99 wt% d'eau);
- la biodégradabilité (les hydrogels peuvent se dégrader dans l'organisme et éviter une seconde chirurgie);
- supports cellulaires (Ottenbrite, 2010).

Néanmoins, ils présentent également des désavantages tels que des propriétés mécaniques faibles, la présence probables d'agents pathogènes et le déclenchement potentiel d'une réponse inflammatoire du système immunitaire.

Tableau 1.2 : Exemples de polymères naturels et monomères synthétiques utilisés pour former des hydrogels (Chippada, 2010).

Natural Polymers	Synthetic Monomers
Chitosan	Hydroxyethylmethacrylate (HEMA)
Alginate	N-(2-Hydroxy propyl)methacrylate (HPMA)
Fibrin	N-Vinyl-2-pyrrolidone (NVP)
Collagen	N-isopropylacrylamide (NIPAMM)
Gelatin	Vinyl acetate (VAc)
Hyaluronic acid	Acrylic acid (AA)
Dextran	Methacrylic acid (MAA)
	Polyethylene glycol acrylate/methacrylate (IPEGA/PEGMA)
	Polyethylene glycol diacrylate/dimethacrylate (PEGDA/PEGDMA)

Ceci est une liste non exhaustive sur la classification des hydrogels, bien d'autres paramètres pouvant permettre de les classer (Tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Autres classifications des hydrogels (Chippada, 2010).

Classification	Contents
Source	Natural Synthetic
Component	Homopolymer Copolymer Multipolymer
Preparation method	Simultaneous polymerization Crosslink of polymer
Electric charge	Nonion Anion Cation Zwitter ion
Physical structure	Amorphous Semicrystalline Hydrogen bonded
Crosslink	Covalent bond Intermolecular force
Functions	Biodegradable Stimuli responsive Superabsorbant
Physical appearance	Matrix Film Microsphere

1.3.2 Hydrogels physiques : agar et alginate

Les hydrogels naturels d'agar et d'alginate sont tous deux des polysaccharides extraits d'algues. Pour former le « sol » on dissout ces composés sous forme de poudres, de flocons ou de bandes blanches inodores généralement dans de l'eau aux alentours de 2 wt%. Ils sont particulièrement connus puisqu'ils sont largement utilisés dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique, ainsi que dans la cuisine moléculaire. Dans les deux cas, seulement 1 wt% de ces éléments mélangés à de l'eau est nécessaire pour observer la transition sol-gel.

1.3.2.1 Agar

L'agar est un polygalactoside colloïdal hydrophile séché extrait de la paroi cellulaire de certaines algues rouges, plus particulièrement des espèces *Gelidium* et *Gracilaria* (Glicksmann, 1982). Lorsqu'il est purifié de ses éléments minéraux, on obtient l'agarose qui contient essentiellement du D-galactose et du 3,6-anydro-L-galactose (Figure 1.29), molécules

responsables du caractère gélifiant du polymère. Il est généralement utilisé dans l'industrie comme épaississant, gélifiant ou stabilisant, dans l'industrie pharmaceutique comme laxatif, excipient et agent de libération ou encore comme milieu bactériologique permettant la croissance de micro-organismes (Dumitriu, 1988; Stephen, Phillips, & Williams, 1995). La transition « sol » vers « sol-gel » se déroule en deux étapes : la distribution des molécules de manière homogène sous forme d'hélices lors du refroidissement et l'agrégation entre les hélices lorsque le point de gélification du polymère est atteint (Schafer & Stevens, 1995). Pour ce faire, la solution doit être portée à une température supérieure à 85°C (T_f) puis refroidie en dessous de 40°C (T_g) (Pines & Prins, 1972; Xiong et al., 2005). Au cours de la montée en température, l'agar va se solubiliser dans l'eau puis, lors de la descente, former les doubles hélices grâce aux liaisons hydrogènes et donc le gel (Figure 1.30).

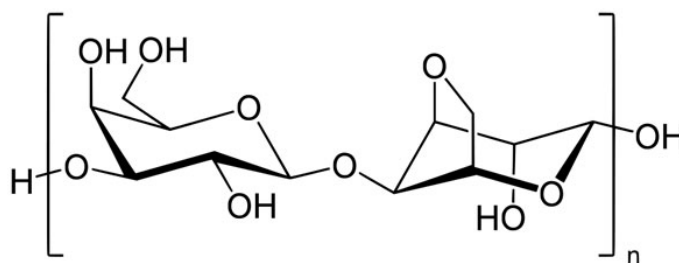


Figure 1.29 : Molécule d'agarose (D-galactose à gauche et 3,6-anhydro-L-galactose à droite).

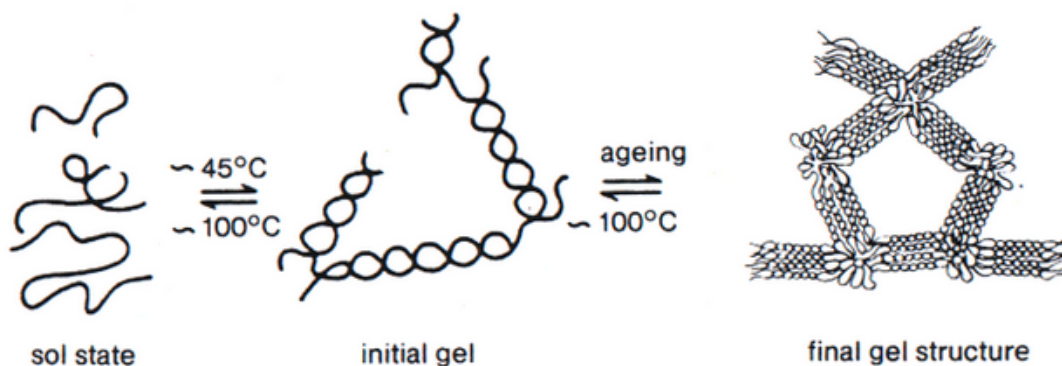


Figure 1.30 : Phénomène de gélification de l'agar (Laas, 1975).

L'agar est un gel réversible, c'est-à-dire, qu'il peut être reformé en réalisant une nouvelle hausse de température au-delà de 85°C tout en conservant ses propriétés mécaniques et thermiques (Stephen, et al., 1995). Cependant, il contient une faible proportion d'agaropectine (chargée de polymères sulfatés), soit du D-galactose/4,6-O-(l-carboxyethylidene)-D-galactose (Gorin, 1965), 3,6-anydro-L-galactose/L-galactose (Araki, 1965) et de l'acide guluronique. Il est souhaitable que ces molécules soient en très faible proportion puisqu'elles affectent les propriétés mécaniques du gel formé (L-galactose crée des nœuds dans les hélices).

1.3.2.2 Alginate

L'alginate est une poudre carbohydate colloïdale hydrophile extraite principalement de la Phaeophyceae, qui est une algue brune (McHugu, 1987). Il est un dérivé de l'acide alginique et elle est composée essentiellement de blocs copolymères d'acide D-mannuronique (bloc M) et d'acide L-guluronique (bloc G) (Figure 1.31). Les macromolécules de l'alginate sont composées d'un assemblage successif ou d'une alternance des monomères M et G en proportion variable (Zhao, Hu, Evans, & Harris, 2011). Le ratio M/G a un impact majeur sur la gélation, la structure et donc les caractéristiques mécaniques finales. Lorsque le ratio est faible le gel va être dense et cassant et inversement, lorsqu'il est élevé le gel va présenter de bonnes propriétés d'élasticité (Gu, Amsden, & Neufeld, 2004).

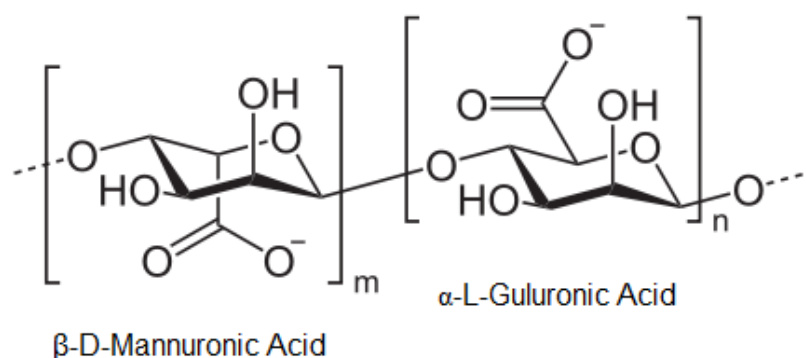


Figure 1.31 : Principaux monomères composant l'alginate.

La transition sol-gel de l'alginate peut être réalisée par deux mécanismes de gélation physique : (1) soit par la diminution du pH (Tonnesen & Karlsen, 2002), (2) soit par l'ajout de cations divalents ou trivalents (excepté l'ion magnésium) (Agulhon, Robitzer, David, & Quignard, 2012). On s'intéressera particulièrement au deuxième cas qui est la gélification la plus

courante. Elle consiste simplement à l'ajout d'ions, comme indiqué ci-dessus, dans la solution d'alginate à température ambiante. Les ions calcium permettent de lier les chaînes macromoléculaires entre elles grâce aux groupes carboxyles fonctionnels de l'alginate (Figure 1.32). Le calcium est utilisé sous poudre blanche inodore et est dissout dans de l'eau (même proportion que pour l'alginate) pour ensuite être ajouté à la solution «sol», ou inversement («sol» ajouté la solution d'ions calcium). La gélification a lieu grâce à la diffusion des ions calcium dans la solution d'alginate. Ce gel est alors réticulé et a la particularité de résister à des températures élevées. Des techniques de dépolymérisation existent, tel que le traitement plasma en solution «solution plasma process» (SPP) (Watthanaphanit & Saito, 2013).

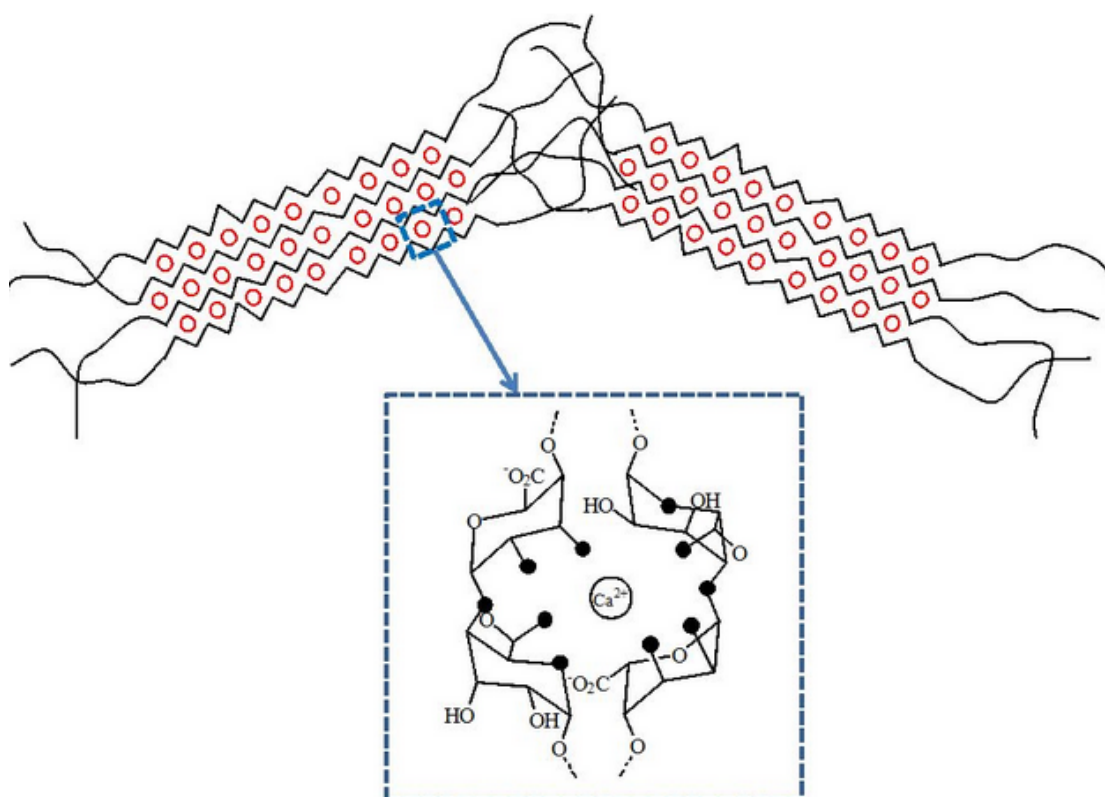


Figure 1.32 : Mécanisme de formation de l'alginate (« egg-box model ») (Syed, et al., 2011).

1.3.3 Techniques d'élaboration de gels poreux

La description de la transition sol-gel expliquée précédemment va permettre la formation de gels pleins et homogènes. Pour ajouter des porosités à ces matériaux, de nombreuses techniques ont été étudiées et élaborées. Dans la littérature cependant, aucune méthode ne permet à ce jour de bien contrôler les structures hydrogels poreuses et co-continues. En effet, les techniques présentent souvent de nombreuses limitations concernant la fraction volumique des porosités et les dimensions moyennes atteignables (Tableau 1.4).

Les méthodes les plus courantes sont :

- La coulée de solvant (« solvent casting ») ou le lessivage particulaire (« particulate leaching »), consiste à mélanger un polymère dans un solvant organique avec des sels de taille précise, de couler ou de mouler la solution, et de laisser évaporer le solvant. Une fois le composite obtenu, les sels sont dissous pour ne laisser que le gel poreux souhaité (Figure 1.33);

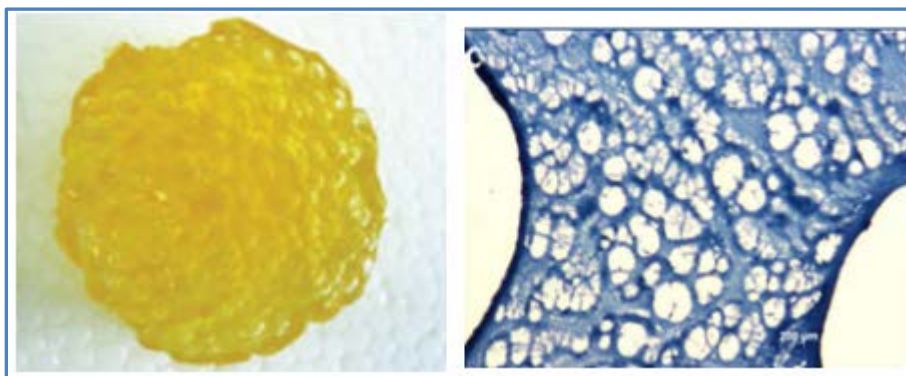


Figure 1.33 : Gélatine poreuse réalisée par lessivage particulaire (diamètre de la boule d'environ 3 cm) (Phull et al., 2013).

- Le moussage au gaz (« gas foaming ») qui consiste à injecter un gaz inerte dans une solution puis de la gélifier afin de conserver la morphologie poreuse (Figure 1.34);

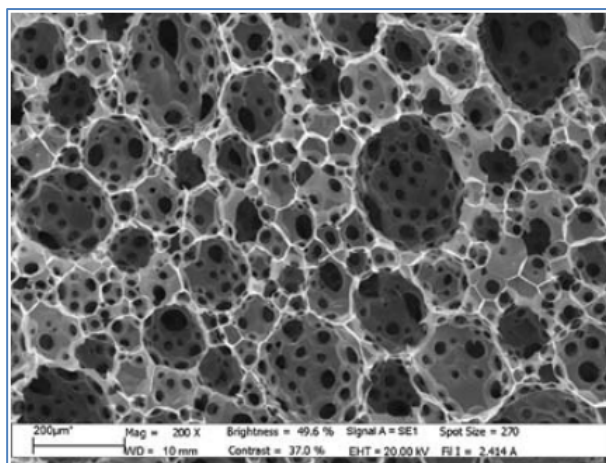


Figure 1.34 : Gélatine poreuse préparée par moussage au gaz (la barre noir correspond à 10 mm) (Barbetta, Rizzitelli, Bedini, Pecci, & Dentini, 2010).

- La lyophilisation (« freeze-drying »), cette méthode consiste à refroidir rapidement une solution polymère-solvant afin de générer des instabilités thermodynamiques provoquant la séparation de phase. Le solvant est ensuite enlevé par sublimation sous hotte laissant place à la porosité (Figure 1.35);

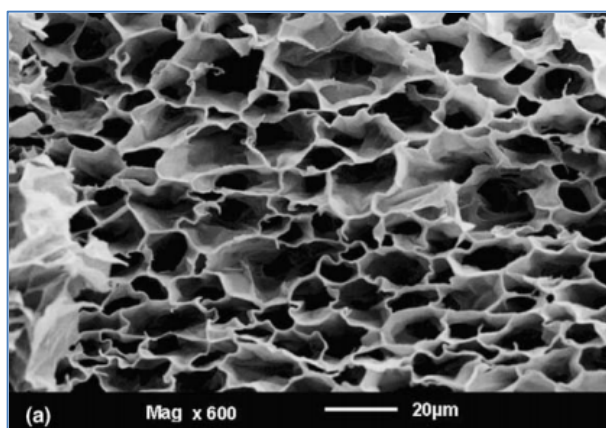


Figure 1.35 : Micrographie MEB d'un hydrogel d'alginate- Ca^{2+} et de poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) (la barre blanche correspond à 20 μm) (De Moura et al., 2005).

- L'électrofilage (« electrospinning »), permet de réaliser des hydrogels poreux par le filage d'un polymère en solution avec un solvant (Figure 1.36). Le principe consiste à tirer des fils d'un tube capillaire contenant la solution (retenu par les tensions de surface) sous l'effet d'un champ électrique externe. Le polymère est chargé par l'application d'une tension élevée, puis tiré par l'attraction d'une plaque collectrice de

charge opposée. Le solvant s'évapore lors du déplacement du jet dans les airs (Reneker & Chun, 1996).

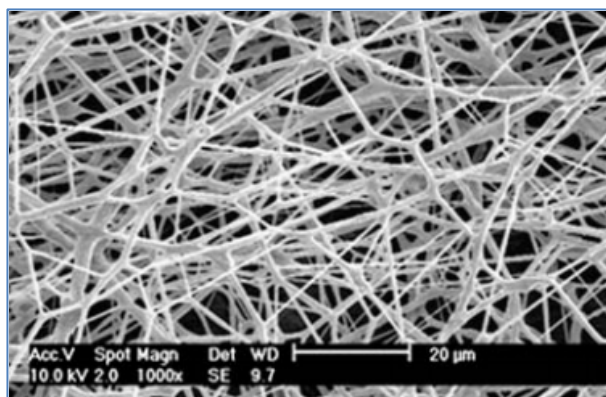


Figure 1.36 : Hydrogel poreux d'acide hyaluronique (HA) (la barre blanche correspond à 20μm) (Kim, Chung, & Park, 2008).

La taille des porosités varie en fonction de la technique et de l'hydrogel utilisé (Tableau 1.4). On peut remarquer que la plage des tailles est restreinte pour le moussage au gaz ainsi que pour l'électrofilage. Les images illustrant les différentes techniques conventionnelles nous montrent aussi l'irrégularité des pores obtenus.

Tableau 1.4 : Avantages et désavantages de différentes techniques de base utilisées pour la formation d'hydrogels poreux co-continus.

<i>Techniques</i>	<i>Porosité atteignable wt%</i>	<i>Taille des porosités atteignables* (μm)</i>	<i>Avantages²</i>	<i>Inconvénients²</i>
Coulée de solvant	20-50 ¹	45-500 ²	- Facilement réalisable	- Peu de contrôle sur l'orientation et le degré d'interconnectivité des pores - Utilisation de solvants organiques

<i>Techniques</i>	<i>Porosité atteignable wt%</i>	<i>Taille des porosités atteignables* (μm)</i>	<i>Avantages²</i>	<i>Inconvénients²</i>
Moussage au gaz	$> 75^2$	$80-600^2$	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode peu coûteuse - Pas de solvant utilisé 	cytotoxiques <ul style="list-style-type: none"> - Peu de contrôle sur l'orientation et le degré d'interconnectivité des pores
Lyophilisation	$< 97^1$	$30-500^2$	<ul style="list-style-type: none"> - Peut être utilisé sur une large gamme d'hydrogels 	<ul style="list-style-type: none"> - Difficulté à contrôler et faire varier la taille des porosités - Utilisation de solvants et formation de «peau» en surface
Électrofilage	$< 90^3$	$20-80^2$	<ul style="list-style-type: none"> - Procédure convenable pour la viabilité des cellules - Surface interne importante 	<ul style="list-style-type: none"> - Difficulté à contrôler et faire varier la taille des porosités

* Dépend grandement du matériau hydrogel utilisé.

¹(Hutmacher, 2000), ²(Annabi et al., 2010) et ³(Lee et al., 2011).

Des techniques plus récentes permettent un meilleur contrôle de la porosité ainsi que de la co-continuité : les technologies de prototypage rapides (PR). Cette famille de techniques comporte un grand nombre de procédés qui consistent à la fabrication de matériaux couche par couche (Figure 1.37). Ces derniers sont réalisés à la suite de la modélisation de chacune des

couches par ordinateur. Le Tableau 1.5 énumère les principales techniques PR, les matériaux utilisés ainsi que les avantages et inconvénients. Ces nouvelles méthodes permettent d'atteindre des porosités jusqu'à 80 wt% et des tailles de pores entre 45 et 150 μm (Hutmacher, 2000).

Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des technologies de prototypage rapides (PR) (Landers et al., 2002).

RP technique	Materials	Advantage	Disadvantage
(CNC milling)	Ceramics, bulk polymers	Broad range of bulk materials Excellent mechanical strength	No complex internal structure
Laser sintering	Metals, ceramics, bulk polymers, compounds	High accuracy Good mechanical strength Broad range of bulk materials	Elevated temperatures—local high energy input Uncontrolled porosity
Stereolithography	Reactive resins	Good mechanical strength	Limited to reactive resins (mostly toxic)
Inkjet printing	Wax or wax compounds	Excellent accuracy	Slow process Material limited to low melting point wax
3D printing (MIT)	Ink + powder of bulk polymers, ceramics	No inherent toxic components Fast processing Low costs	Weak bonding between powder particles
FDM/FDC	Some thermoplastic polymers/ceramics	Low costs	Bad accuracy—rough surface Elevated temperatures Small range of bulk materials
3D plotting	Swollen polymers (hydrogels), thermoplastic polymers, reactive resins, ceramics	Broad range of materials Broad range of conditions Incorporation of cells, proteins and fillers	Medium accuracy Slow processing Low accuracy No standard condition—time consuming adjustment to new materials

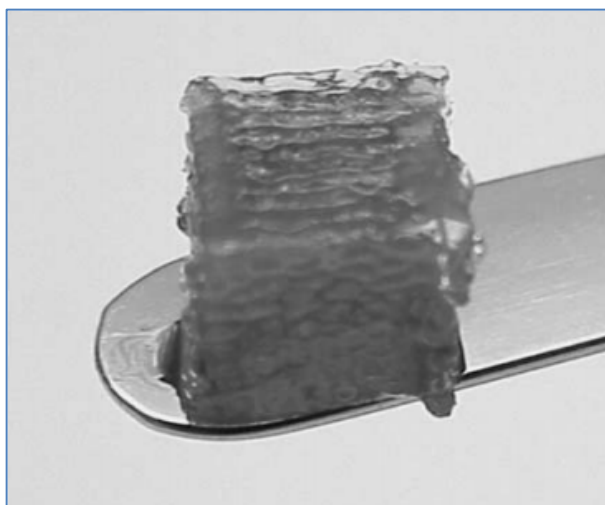


Figure 1.37 : Agar préparé par traçage 3-D (Landers, et al., 2002).

Au travers de cette section, il apparaît clairement la difficulté des techniques actuelles à contrôler et à faire varier la taille des porosités interconnecté des hydrogels poreux.

1.3.4 Caractérisations

Les hydrogels poreux suscitent un intérêt particulier dans les domaines du génie biomédical et du génie tissulaire. Aussi, la caractérisation de ces matériaux se rapportent le plus souvent à la mesure des paramètres de porosité (taille des différentes phases et co-continuité), des propriétés mécaniques ainsi que de la toxicité (Yin, Fei, Tang, & Yin, 2007).

1.3.4.1 Morphologie

Tout comme les polymères poreux, les hydrogels poreux peuvent être étudiés au microscope électronique à balayage à condition qu'ils soient lyophilisés et métallisés préalablement (Partap, Muthutantri, Rehman, Davis, & Darr, 2007). Certaines techniques nécessitent qu'ils soient seulement lyophilisés : porosimétrie au mercure (PIM) et le pycnométrie au gaz. Cependant, pour avoir une meilleure idée de la morphologie réelle, c'est-à-dire pour le gel saturé en eau, la microscopie optique, la microscopie confocale laser à balayage, l'imagerie par résonance magnétique et la microtomographie rayon-X semblent être de meilleures alternatives. Cette dernière est très intéressante, puisqu'elle permet après reconstruction «en coupe», la visualisation d'une structure en deux et trois dimensions sans préparation ou fixation chimique. Elle permet la détectabilité des détails isotropes pouvant descendre souvent en dessous du μm par l'interaction d'un faisceau de rayons X avec la matière (hétérogénéité, singularité, vide ou inclusion). Des radiographies sont prises, alors que l'échantillon réalise un tour complet sur sa plateforme. Les logiciels associés permettent ensuite la reconstitution en deux et trois dimensions à l'aide des informations provenant des détecteurs capables d'évaluer les rayonnements transmis après la traversée de l'échantillon (Figure 1.38) (Guo et al., 2013; Partap, et al., 2007).

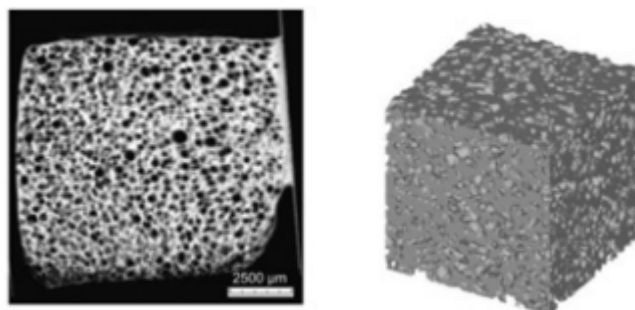


Figure 1.38 : Reconstruction en 2-D et 3-D d'un hydrogel poreux à base de protéines de soja (Guo, et al., 2013).

1.3.4.2 Propriétés mécaniques

En ce qui concerne les propriétés mécaniques, Chen et Park ont établi une procédure pour déterminer la force compressive d'un hydrogel (Chen & Park, 2000). Elle consiste simplement à appliquer des poids, de plus en plus lourd, à l'hydrogel saturé, jusqu'à une valeur pour laquelle la structure gélifiée va s'affaisser. La pression en ce point est appelée pression de pénétration (PP) et elle peut être calculée comme suit :

$$PP = F_u/S \quad (25)$$

avec F_u la force compressive ultime pour une rupture complète de l'hydrogel et S la surface du point d'appui.

Une méthode très similaire et plus récente est le test en compression (statique ou dynamique). L'échantillon est placé entre deux plaques et il est ensuite compressé. Les différents modules peuvent être déduits des courbes de contrainte/déformation obtenues (Ahearne, Yang, & Liu, 2008; Awad, Quinn Wickham, Leddy, Gimble, & Guilak, 2004; Svensson et al., 2005).

Les modules d'Young pour les tissus mous sont généralement compris entre 10 kPa et 350 kPa contre 10 MPa et 30 GPa pour les tissus durs (Ottewill, 2010)

1.3.4.3 Étude de la toxicité

Des essais de cytotoxicité et des évaluations biochimiques peuvent être faits en cas de nécessité (Yin, et al., 2007). Une analyse Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) peut également permettre d'observer les traces de solvants résiduels.

1.3.5 Applications

Les hydrogels poreux suscitent un intérêt dans de nombreuses applications. La morphologie des pores nécessaire va être entièrement dépendante de la future utilisation. Par exemple, pour des membranes filtrantes, il est possible de séparer les molécules par taille, charge et groupes fonctionnels (Tokarev & Minko, 2010). Dans ce cas la morphologie et la fonctionnalité doivent donc être élaborées en fonction des molécules à filtrer. Il en est de même dans les domaines biomédical et pharmaceutique avec les implants développés pour la croissance tissulaire et la libération de médicaments respectivement. Les hydrogels semblent être très prometteurs et largement étudiés dans ces derniers cas (Tableau 1.6). Ils sont des candidats

intéressants puisqu'ils présentent une composition très similaire aux cellules biologiques (composées principalement d'eau), ce qui entraîne en général une bonne biocompatibilité.

Tableau 1.6 : Exemples de quelques hydrogels utilisés dans l'ingénierie tissulaire (Slaughter, Khurshid, Fisher, Khademhosseini, & Peppas, 2009).

Intended tissue	Cell type(s) studied	Hydrogel type(s)	Hydrogel function(s)
Bone	Fibroblasts	PEG	Scaffold
Cardiovascular	Bone marrow cells	Fibrin	Cell delivery, Scaffold
Cardiovascular	Cardiomyocyte, Endothelial, ESCs	SAP	Encapsulation, Scaffold
Cardiovascular	Hepatocytes	HA, Alginate, Carboxymethylcellulose	Scaffold
Cartilage	Chondrocytes	Fibrin	Cell delivery, Scaffold
Cartilage	ESCs	PEG	Drug delivery, Encapsulation
Cartilage	Chondrocytes	PVA	Encapsulation
Cartilage	Chondrocytes	Alginate	Encapsulation
Cartilage	Chondrocytes	Collagen	Encapsulation
Cartilage	Chondrocytes	Collagen, HA	Encapsulation
Cartilage	Chondrocytes	PLLA [b], Agar, Gelatin	Encapsulation, Scaffold
Cartilage	Chondrocytes	HA, Collagen	Encapsulation, Scaffold
Cartilage	Chondrocytes	Fibrin	Encapsulation, Scaffold
Cartilage	Chondrocytes	SAP	Encapsulation, Scaffold
Cartilage/Bone	–	Alginate, HA	Bioreactor, Scaffold
Connective Tissue	Fibroblasts	HA	Encapsulation, Scaffold
ECM	Fibroblasts	HA, Chondroitin Sulfate, Gelatin	Encapsulation, Scaffold
Eye	–	HA	Barrier, Scaffold
Eye	–	PHEMA	Scaffold
Facial	Chondrocytes	Alginate	Encapsulation, Implant
Facial	–	HA	Space-Filler
Intraperitoneal	–	HA	Barrier
Neural	–	Collagen	Drug delivery
Pancreatic	Islet of Langerhans	PEG	Encapsulation
Skin	–	Collagen	Drug delivery
Spinal cord	Astroglial cells	Collagen	Encapsulation
Vascular	–	Alginate	Drug delivery
Vascular	–	Gelatin	Drug delivery
Vocal Cord	–	HA–Gelatin	Scaffold
Vocal Cord	–	Collagen, Alginate	Scaffold

1.3.5.1 Libération de médicaments :

Les hydrogels utilisés pour la libération ne sont pas forcément poreux. Cependant, cette caractéristique peut être utilisée en vue d'une amélioration de la libération des molécules piégées (Qiu & Park, 2001). Les aspects importants de cette application concernent essentiellement les propriétés de biodégradabilité de l'hydrogel utilisé, son processus de gélification (physique ou chimique), sa morphologie et enfin les propriétés des molécules à libérer.

1.3.5.2 Ingénierie tissulaire :

Pour les applications liées à la régénération et à la culture cellulaire, les matériaux choisis doivent répondre à un grand nombre d'exigences. Ils doivent être facilement manipulables et applicables sur le site endommagé, provoquer un minimum de réaction inflammatoire (stérile et non toxique), faciliter l'angiogenèse et posséder une perméabilité, une adhérence, des propriétés mécaniques, une biodégradation et un coût adaptés (Korkina, Kostyuk, & Guerra, 2009).

Le domaine du génie tissulaire est prometteur pour les hydrogels poreux co-continus. Il consiste en la réparation ou le remplacement de tissus endommagés par l'injection des cellules appropriées dans une structure (ici l'hydrogel) imitant la matrice extracellulaire temporairement. Les cellules, sous des conditions adaptées, vont proliférer et venir graduellement remplacer l'hydrogel. Initialement, elles peuvent être mélangées au « sol » avec des facteurs de croissance *in vitro* pour obtenir une meilleure homogénéité, puis injectées avant gélification ou gélifiées puis implantées (Figure 1.39).

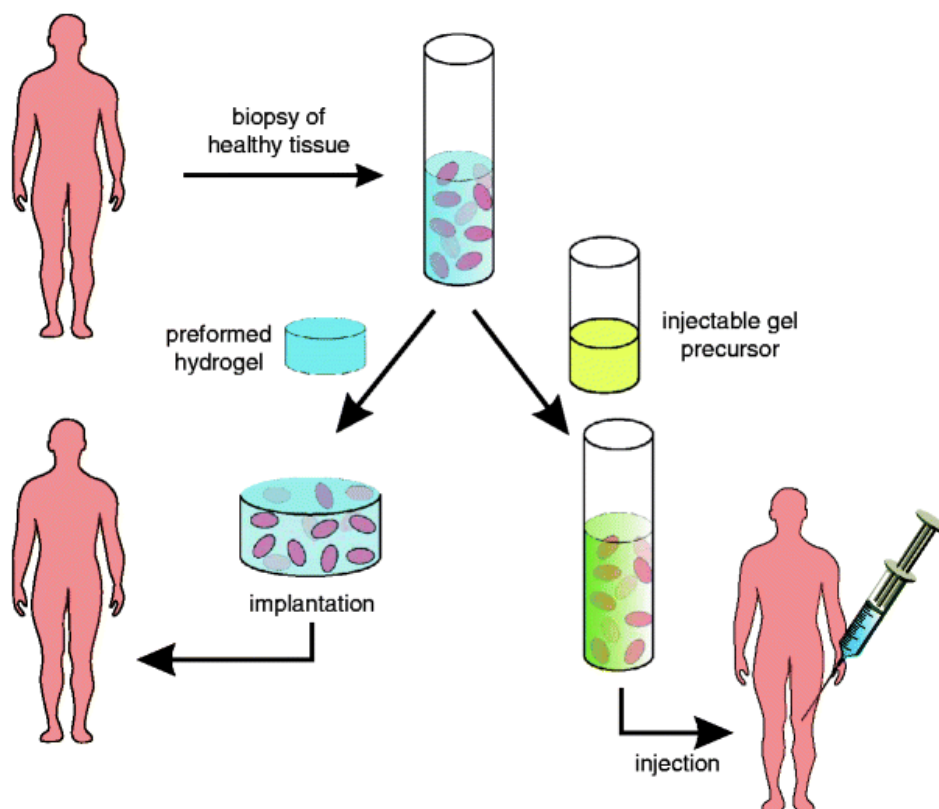


Figure 1.39 : Les différentes possibilités de régénération tissulaire avec des structures hydrogels (Ottenbrite, 2010).

Le contrôle de la taille des porosités et de la co-continuité va être un élément majeur pour ces applications. En effet, en fonction du tissu à réparer la morphologie devra être différente (Tableau 1.7) et la co-continuité devra être proche de 100 pourcent, c'est-à-dire ne présenter aucune porosité isolée. L'isolation de certains pores diminue ou empêche la circulation de fluides vitaux pour les cellules. Un diamètre moyen de porosité important ($\geq 100 \mu\text{m}$) permet une bonne diffusion des nutriments et de l'oxygène et une évacuation des déchets et des produits acides, ce qui encourage l'attachement et la prolifération des cellules mères (Hwang et al., 2010). L'hydrogel doit également avoir une biodégradabilité adaptée à la croissance des cellules afin de permettre une reconstruction en trois dimensions progressive.

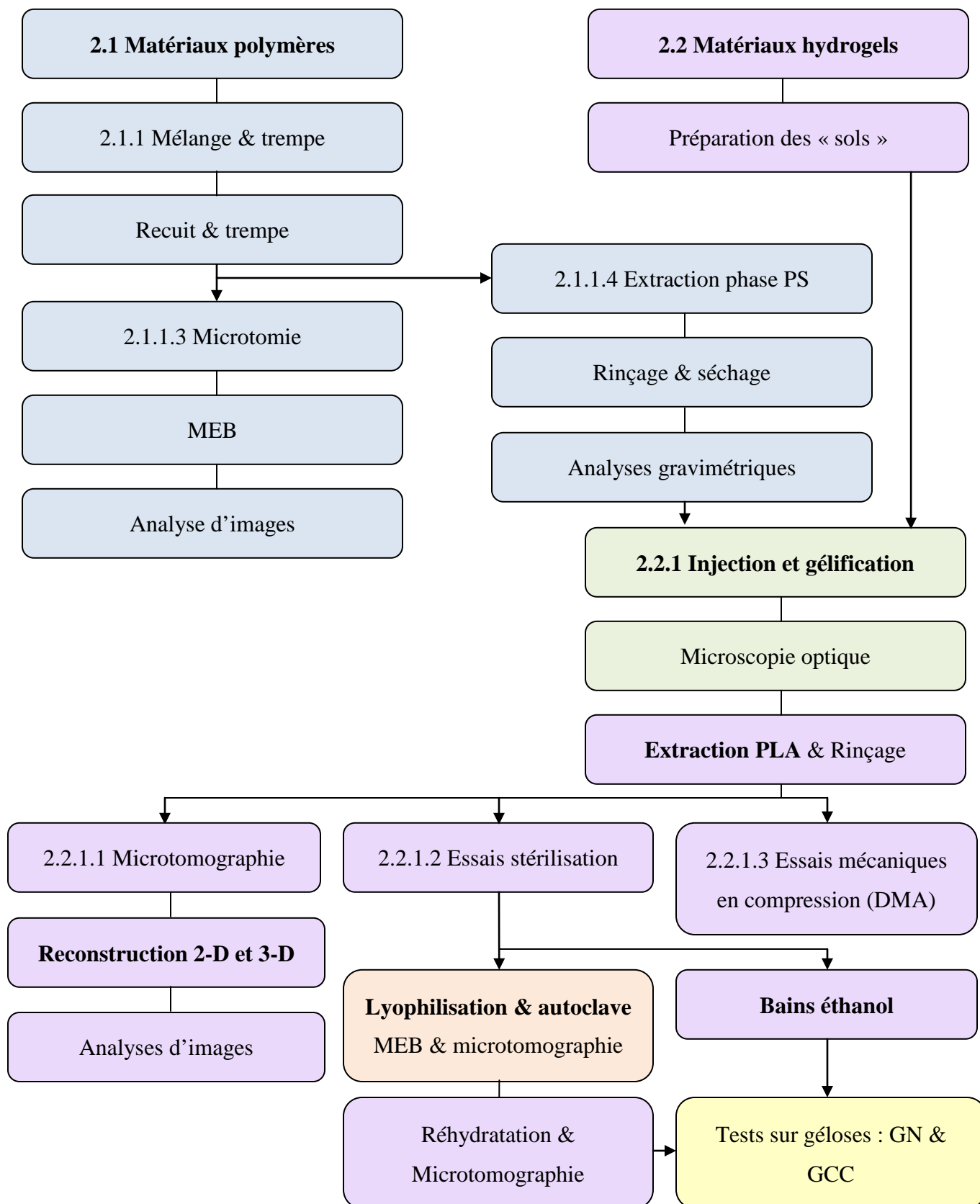
Tableau 1.7 : Taille optimale des porosités pour des matrices extracellulaires (Chiu et al., 2011).

	Pore Size (nm)
Basement membranes	20-100
Fibrin	100-11,000
Collagen	1,000-10,000
Encapsulation	800-8,000
Wound healing	20,000-120,000
Vascularization	>90,000

Les hydrogels naturels (les protéines, les polysaccharides et les polynucleotides) sont préférentiellement utilisés puisqu'ils présentent de meilleures interactions avec la majorité des cellules biologiques. Cependant, aucune cellule ne doit se trouver à plus de $200 \mu\text{m}$ d'un flux sanguin afin de ne pas manquer d'oxygène et de nutriments (Dhandayuthapani, Yoshida, Maekawa, & Sakthi Kumar, 2011; Koningsveld, et al., 1974).

CHAPITRE 2 MÉTHODOLOGIE EXPERIMENTALE

La méthodologie expérimentale s'est organisée selon le diagramme suivant :



2.1 Schéma de synthèse de la méthodologie

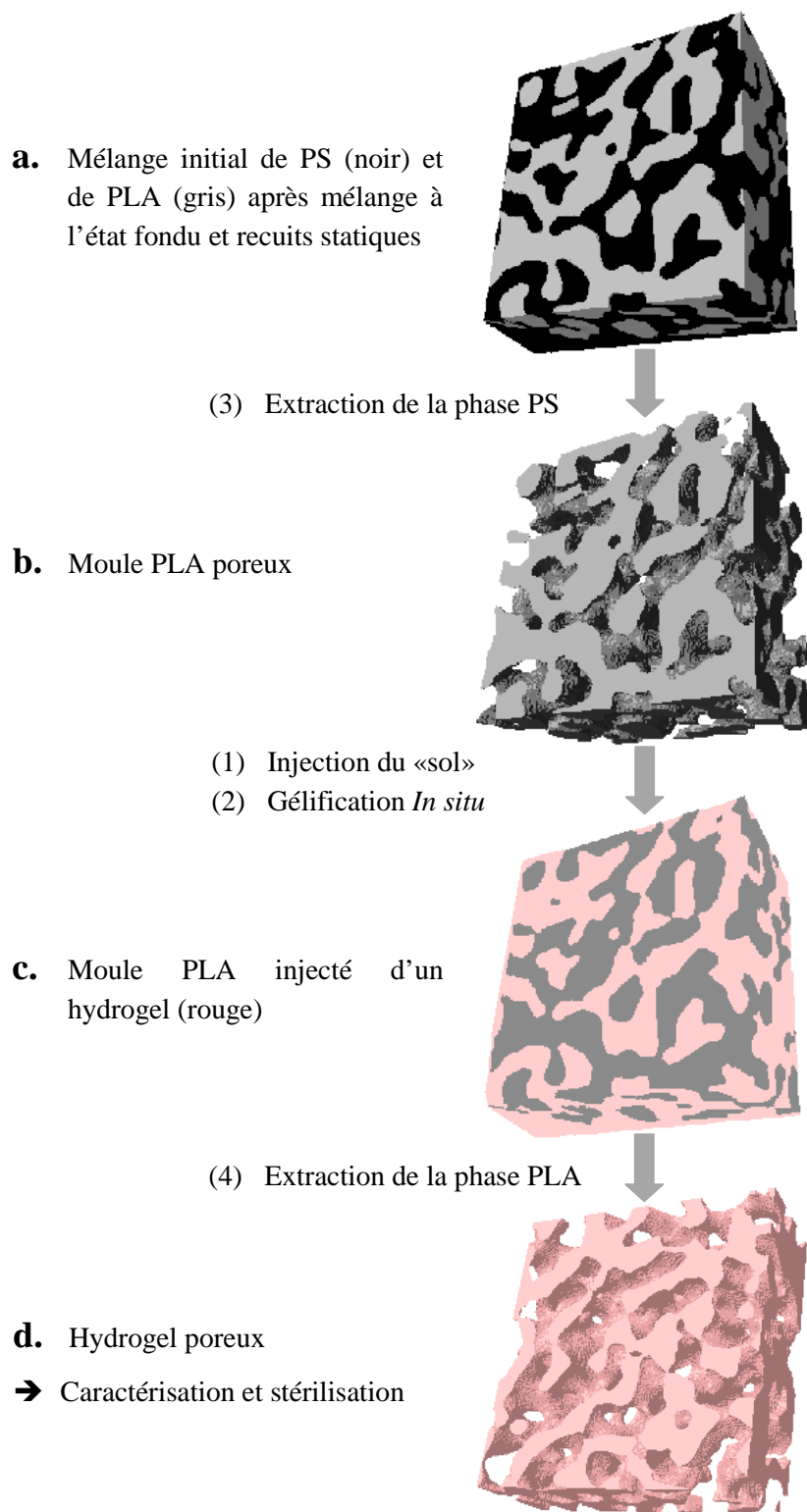


Figure 2.1 : Schéma sur la contribution principale du projet de maîtrise.

2.2 Matériaux polymères

Dans l'objectif de réaliser des moules en polymère poreux, deux matériaux ont été sélectionnés : le Polystyrène (PS) 615APR (STYRON™) et le Poly(L-lactide) (PLA) 4032D (NatureWorks®).

Tableau 2.1 : Propriétés physiques du PS et du PLA utilisés.

Homopolymères	Densité ($\frac{g}{cm^3}$) à 20°C	Densité ($\frac{g}{cm^3}$) à 200°C	Tg (°C)	Tf (°C)	Mw ($\frac{g}{mol}$)
PS 615 APR STYRON™	1.04 ^a	0.97 ^b	101 ^a	-	192000 ^b
PLA 4032D NatureWorks®	1.24 ^a	1.11 ^c	63 ^d	169 ^e	180000 ^e

^a Information du fournisseur

^b(Xiang, et al., 2009)

^c(Sarazin & Favis, 2003)

^d(Sungsanit, Kao, Bhattacharya, & Pivsaart, 2010)

^e(Whang, Thomas, Healy, & Nuber, 1995)

2.2.1 Mélanges des polymères et recuit statique

Les mélanges PLA/PS ont été réalisés aux alentours de 190°C pour une fraction volumique de 50/50 afin d'obtenir une morphologie co-continues des phases (Sarazin & Favis, 2003). Les masses initiales des polymères ont tenu compte de leur densité à la température du mélange (Tableau 2.1). Les granules de PLA étant sensibles à l'humidité, elles ont été préalablement étuvées à 60°C pendant 12 h. Enfin, la morphologie a été figée par des trempes dans des bains d'eau glacée.

2.2.1.1 Mélangeur interne

Dans un premier temps, les mélanges ont été réalisés avec un mélangeur interne de type PlastiCorderDigi-System de C.W. Brabender Instrument Inc. à une vitesse de 50 rpm et une température de 190°C durant 5 minutes sous un jet d'azote gazeux (temps suffisant pour la stabilisation du mélange). Un volume total de 24 ml est souhaité pour ne pas saturer la chambre du mélangeur, alors une masse de 13.32 g de PLA et 11.64 g de PS ont été ajoutés.

Différents recuits statiques à 190°C ont ensuite été appliqués pour faire varier la taille des phases co-continues (Section 1.1.7): 0 minute, 10 minutes, 30 minutes, 60 minutes et 90 minutes, suivis d'une trempe à l'eau glacée. L'appareil utilisé est une presse hydraulique avec plateaux chauffants, d'une surface d'environ 900 cm², de marque Carver inc. (pression de contact seulement). Finalement, les échantillons ont été découpés en cube d'environ 0.8 mm de côté (Figure 2.2).

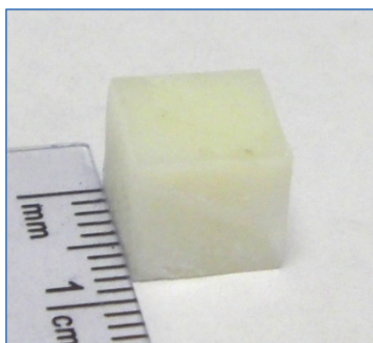


Figure 2.2 : Cube de PS/PLA mélangé à 190 °C à l'aide d'un mélangeur interne avec un recuit statique de 10 min.

2.2.1.2 Extrusion et moulage par injection

D'autres mélanges ont également été réalisés par extrusion à 185°C suivi de moulage par injection à $T_1 = 145\text{ °C}$, $T_2 = 160\text{ °C}$, $T_3 = 175\text{ °C}$ et $T_4 = 185\text{ °C}$, afin de démontrer la possibilité de fabrication à grande échelle. Les unités utilisées sont une extrudeuse David-Standard KN-175 couplée à une vis de 1 po $\frac{3}{4}$ avec un rapport de vis longueur/diamètre de 24/1, et une presse à injection Sumitomo SE 50S d'un tonnage de 50T (diamètre de vis de 32mm). Le moule d'injection avait la forme d'un barreau de dimension : 0.95 cm \times 1.25 cm \times 6.3 cm (Figure 2.3). Différents recuits statiques du mélange binaire ont été réalisés PLA/PS à 190°C (0,

10, 20 et 30 minutes) à l'aide d'une presse hydraulique avec plateaux chauffants, d'une surface d'environ 1800 cm², de marque Carver inc. (pression de contact seulement).

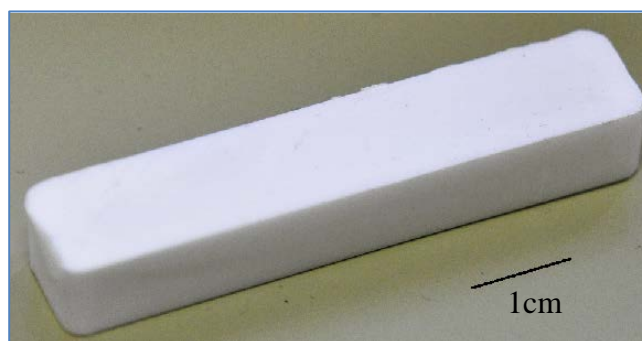


Figure 2.3 : Barreau de PS/PLA mélangé à 190 °C par extrusion jumelée au moulage par injection (sans recuit).

2.2.1.3 Observation microscopique de la morphologie du mélange polymère

Pour pouvoir observer la morphologie obtenue, chaque échantillon cubique de chaque recuit, ont été microtomés. L'appareil utilisé était un microtome Leica-Jung RM 2065 avec bain d'azote liquide (LN 21) et équipé d'un couteau de verre. Il consiste à prélever des tranches de l'ordre du micromètre à l'échantillon plongé en dessous de sa température vitreuse. Ainsi, il est possible d'obtenir des surfaces très planes avec peu de défauts, permettant de meilleures observations au microscope électronique à balayage (MEB). Les électrons secondaires ne permettant pas ici la distinction des phases, il a été important d'extraire le PS avec du cyclohexane pendant deux semaines à l'aide d'un plateau agitateur (changement du solvant à chaque jour et à température ambiante). Les lots ont ensuite été pesés (co-continuité > 90%), métallisés au palladium puis des micrographies ont été prises à l'aide d'un microscopie électronique à balayage à canon d'émission de champs (FEG-MEB) à émissions de la compagnie JEOL (JSM-7600TFE) (2kV et 10⁻⁶ A) au laboratoire du CM² à l'École Polytechnique de Montréal. Ces images ont été binarisées puis le périmètre des porosités a été mesuré à l'aide d'une table digitale de Wacom et du logiciel SigmaScan V.5. Des méthodes par analyse d'image ont ensuite été appliquées pour déterminer les aires interfaciales spécifiques (Galloway, et al., 2002) et les tailles de pores moyennes (Li & Favis, 2001) associées à chaque recuit :

$$S' = \frac{P'}{A'} \quad (26)$$

avec S' l'aire interfaciale spécifique, P' le périmètre interfacial et A' l'aire analysée du micrographe (calibrée).

$$d = \frac{4V_p}{S'} \quad (27)$$

avec d la taille de pore moyenne, V_p le volume de porosité (ici 0.5 cm³ par cm³ de mélange) et S' l'aire interfaciale spécifique.

Les calculs ont été réalisés pour les échantillons cubiques seulement (mélangeur interne). La microstructure des barreaux sera, quant à elle, analysée qualitativement par microtomographie sur les recuits de 10, 20 et 30 min. À partir de ces résultats la morphologie pourra être quantifiée plus tard.

2.2.1.4 Réalisation d'échantillons PLA poreux

En vue de la réalisation de moules polymères pour hydrogels, le PS a également été extrait au cyclohexane dans les mêmes conditions que décrit précédemment (Réf. 2.2.1.3). Pour éviter toute contamination avec le solvant, les moules ont été séchés à l'étuve à 60°C pendant deux jours, rincés à l'eau distillée et séchés à nouveau. Enfin, des analyses gravimétriques ont été faites à l'aide de plusieurs pesés pour vérifier une co-continuité du PS supérieure à 90% (équation 19).

$$\% \text{ continuity of PS} = \frac{m_{s,ini} - m_{s,fin}}{m_{s,ini}} \times \frac{m_{PS \text{ in blend}}}{m_{blend}} \times 100$$

avec $m_{s,ini}$ la masse de l'échantillon avant extraction, $m_{s,fin}$ la masse de l'échantillon après extraction, $m_{PS \text{ in blend}}$ la masse du PS dans le mélange initial et m_{blend} la masse totale du mélange initiale.

Le PS étant en présence à 50 vol% dans le mélange, les masses avant et après extraction de l'échantillon permettent de déterminer si cette phase a été entièrement extraite. Le pourcentage obtenu correspond ainsi au pourcentage d'extraction du PS, relié directement à la co-continuité. En effet, si des phases sont isolées (exemple : des gouttes de PS dans une phase PLA), ces dernières ne pourront pas être extraites et le pourcentage de co-continuité sera alors inférieur à 100 %. La co-continuité est généralement convenable entre 90 % et 95 % (Réf. 1.1.1).

2.3 Matériaux hydrogels

Les matières premières utilisées, l'agar et l'alginate, sont toutes deux des grades commerciaux fournis par La Guilde Culinare. La préparation des « sols » a été faite par l'ajout de 3 wt% d'agar et 2 wt% d'alginate respectivement dans de l'eau (bêchers séparés). Pour l'obtention de « sols » homogènes, ils ont ensuite été chauffés à 100°C sous agitation pendant 30 minutes, puis colorés afin de mieux les distinguer avec des colorants alimentaires de la marque Berthelet : l'agar en rouge et l'alginate en bleu.

2.3.1 Réalisation de l'hydrogel poreux

Une fois les « sols » obtenus, ils ont été injectés dans les moules PLA poreux à l'aide d'un système d'injection développé en laboratoire. Une seringue de 30 ml a été découpée afin d'insérer un piston de chaque côté (Figure 2.4) et un trou de purge a été percé en son centre afin de permettre à l'air et au « sol » de s'évacuer. Ainsi, une matrice PLA et le « sol » ont été déposés à l'intérieur de la seringue à 80°C, puis par simple pression des pistons, les porosités du polymère poreux se remplissaient de la solution. Les échantillons PLA remplis ont ensuite été placés à température ambiante (pour l'agar) ou dans une solution de lactate de calcium à 2 wt% (pour l'alginate) afin de gélifier. Après 12 h, un exemplaire de chaque recuit a été sectionné en deux parties et son cœur a été observé à l'œil nu et au microscope optique. Les autres échantillons ont été plongés dans un bain de chloroforme pendant 2 semaines avec agitation afin d'extraire le polymère restant (PLA) et ne laisser que l'hydrogel poreux. Ce solvant a été choisi suite à des expérimentations préalables prouvant une bonne compatibilité avec les hydrogels. Enfin, les structures obtenues ont été rincées à l'eau distillée une dizaine de fois pour enlever toutes traces de solvant.

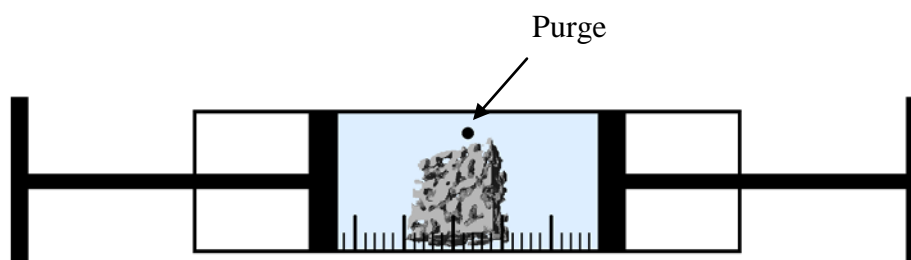


Figure 2.4 : Schéma du système d'injection des moules de PLA poreux.

2.3.1.1 Caractérisation des hydrogels poreux par microtomographie à rayon-X

Des échantillons PLA poreux (barreaux issus de recuit à 30, 20 et 10 minutes) et des hydrogels poreux (cubes de chaque gel issu de recuit à 60 min et barreaux à 30 min), ont été analysés par microtomographie. Les mesures ont été relevées à l'aide d'une unité Skyscan 1172 microCT de Bruker dans le laboratoire de caractérisation des matériaux (LCMA) à l'Université de Sherbrooke. Tous les gels ont été préalablement épongés sur un papier absorbant pendant 30 secondes afin de vider l'eau des canaux poreux. Les paramètres utilisés sont les suivants : 40 kV (voltage), 250 μ A (courant), 9.80 μ m (taille des pixels), 0.4° (pas de rotation) et une exposition de 147 ms (Annexe 2). Les radiographies ont été reconstruites à l'aide du logiciel NRecon et la visualisation 2-D et 3-D avec les logiciels CTan et CTvol (Skyscan).

2.3.1.2 Essais de stérilisation

Des cubes d'agar et d'alginate poreux issus dn recuit à 60 min, ont été trempés dans de l'azote liquide, puis lyophilisés. Ces mesures ont été réalisées à l'aide d'une unité Labconco FreeZone 2.5 litres Plus Cascade Benchtop (cat N° : 7670020) pendant 48 heures dans le laboratoire de la chaire de recherche en Génie tissulaire du cartilage à l'École Polytechnique de Montréal. Les hydrogels déshydratés obtenus ont ensuite été observés au MEB dans le laboratoire du CM² à l'École Polytechnique de Montréal ainsi que par microtomographie (voir paragraphe précédent) avant et après réhydratation.

Deux essais de stérilisation ont été appliqués : - deux bains successifs à l'éthanol/méthanol (85/15 vol%) de 2h pour des hydrogels poreux hydratés (moulés à partir d'un PLA poreux $t_{\text{recuit}} = 60$ min); et une stérilisation à l'étuve de 30 minutes à 120°C pour les hydrogels poreux lyophilisés (moulés à partir d'un PLA poreux $t_{\text{recuit}} = 60$ min).

Pour démontrer un environnement stérile dans les échantillons obtenus, chaque hydrogel a été déposé dans un milieu de culture alphaMEM + 10% (v/v) de sérum de veau foetal, incubé 3 jours à 37°C puis retiré. Le milieu de culture restant a ensuite été étalé sur des géloses : GN (Gélose Nutritive) et GCC (Gélose Cœur et Cerveau) puis placées à 35°C durant 24 h (temps nécessaire pour l'apparition des colonies bactériennes). La Figure 2.5 montre pour les deux types de gélose : un milieu non stérile (lymphocyte T cytotoxique (LTC) positive) et un milieu stérile (CTL négative). Ces essais ont été réalisés en collaboration avec le groupe de recherche de la Professeure Nathalie Fauchaux, Professeure Agrégée à l'Université de Sherbrooke.

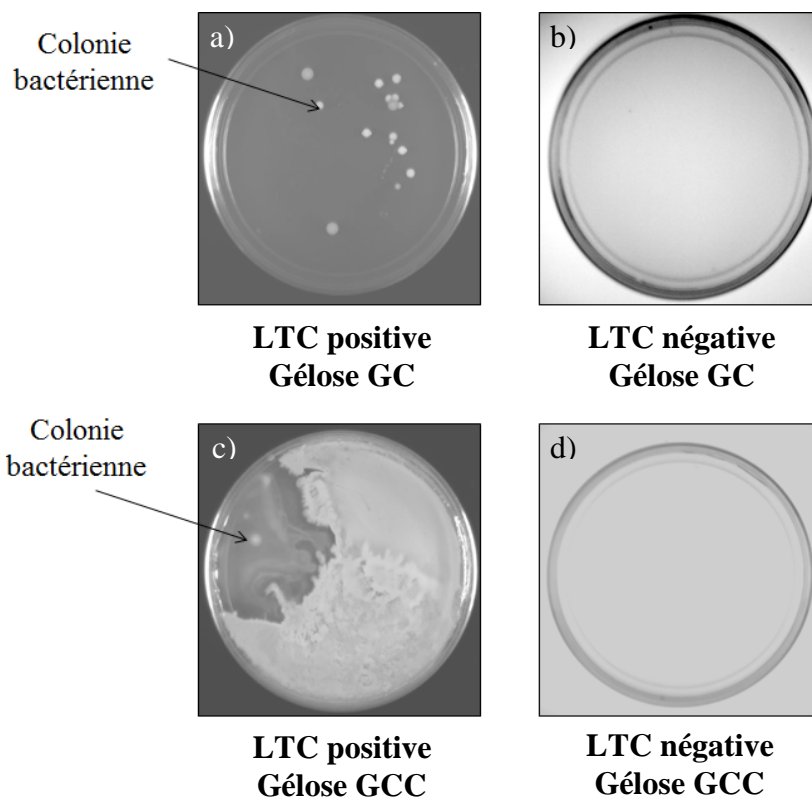


Figure 2.5 : Représentation de milieux non stériles LTC [(a) et (c)] et de milieux stériles [(b) et (d)] pour les géloses GC et GCC.

2.3.1.3 Essais en compression

Des essais de compression, sur les hydrogels poreux issus des barreaux, ont finalement été réalisés avec un appareil DMA Q800 de TA Instrument dans le laboratoire de la chaire sur les Composites à Hautes Performance (CCHP) à l'École Polytechnique de Montréal. Des cubes de 5 mm de côté ont été découpés dans le centre des barreaux hydrogels issus des recuits 20 et 30 minutes ainsi que dans des gels pleins. Seulement ces temps de recuit ont été analysés, car les autres injections étaient incomplètes avec le système d'injection manuel. Des mesures de contraintes (MPa) en fonction de la déformation ont été relevées pour évaluer quantitativement la résistance des différents échantillons pour un minimum de 3 répétitions par série. La rampe utilisée était de 0.01 N/min à 37°C.

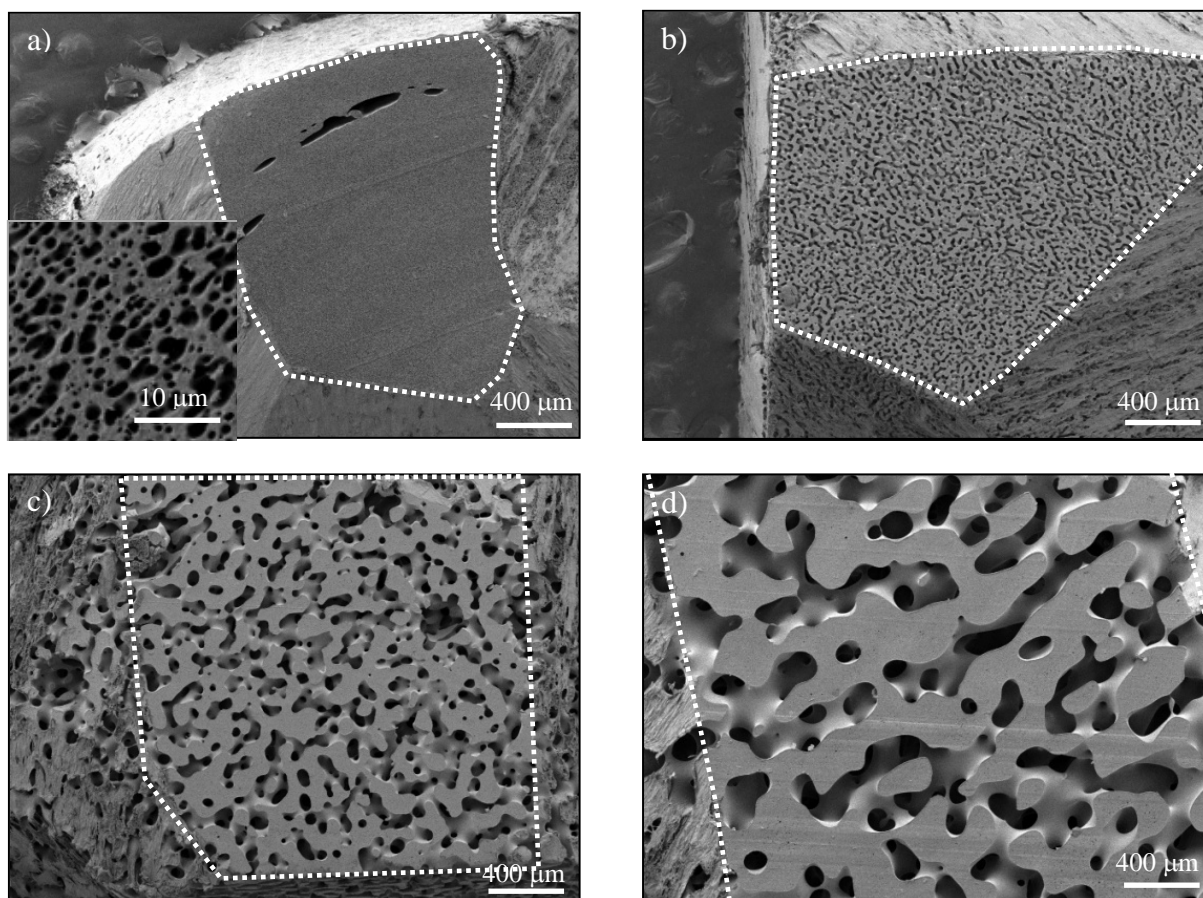
CHAPITRE 3 SYNTHÈSE

Cette maîtrise s'est axée sur la préparation d'hydrogels comportant des porosités interconnectées avec une taille moyenne pouvant être contrôlées sur une gamme de 1 μm à 1000 μm à partir de mélanges de polymères. Ce projet a permis la préparation d'un brevet (en cours), la rédaction d'un article scientifique (à l'Annexe X, qui sera soumis prochainement à *Journal of the American Chemical Society* ou *Biomaterials*, deux périodiques scientifiques avec d'importants facteurs d'impact) avec la possibilité d'un deuxième article dans les semaines à venir. Ce chapitre de synthèse se subdivise en 5 parties principales : (1) la caractérisation de la morphologie de mélanges PLA/PS 50/50 vol% en fonction de différents temps de recuit statique appliqués; (2) l'étude de la pénétration des gels dans les moules pour le système d'injection manuel élaboré ; (3) la caractérisation de la morphologie en 2-D et 3-D de certains gels poreux obtenus; (4) les études de stérilisation à partir de la lyophilisation suivi d'un recuit et des bains d'éthanol successif; et enfin (5) l'observation qualitative de la résistance mécanique de ces matériaux finaux. Finalement une discussion générale, décrivant les principaux résultats obtenus, suit afin de mettre en perspective la contribution scientifique de cette maîtrise et d'aborder les essais qui ont moins bien fonctionnés.

3.1 Contrôle de la porosité d'une structure PLA à partir d'un mélange binaire PLA/PS

Les mélanges réalisés à l'aide d'un mélangeur interne ont subi 5 recuits statiques de 0, 10, 30, 60 et 90 minutes. Le recuit de 0 min établit la taille minimum des faisceaux co-continus, tandis que les autres recuits permettent l'épaississement de la microstructure (Sarazin & Favis, 2003). Les morphologies des phases qui en découlent apparaissent sur les micrographies obtenues à l'aide d'un microscope électronique à balayage après extraction de la phase de PS. On observe une co-continuité de la phase PS pour tous les mélanges (ici en proportion de 50/50 vol%), laquelle est démontrée avec les mesures de co-continuité obtenues par gravimétrie et présentées dans la Table 3.1. En effet, la co-continuité calculée avec l'équation 19 pour les différents échantillons est supérieure à 95%, avec un minimum de $95 \pm 2 \%$ pour les recuits de 10 min et un maximum de $97 \pm 1 \%$ pour les recuits de 30 min. Le diamètre des porosités ne semble pas ici influencer le pourcentage de co-continuité du PS.

Les micrographies de la Figure 3.1 présentent une augmentation importante de la taille moyenne des porosités avec le temps de recuit. Ces résultats sont appuyés par les calculs réalisés à partir des équations 26 et 27 dans le Tableau 3.1 et les courbes de la Figure 3.2. Pour des recuits de 0 à 90 min, il est possible de faire varier la taille moyenne des porosités de $3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ à $444 \pm 30 \mu\text{m}$, c'est-à-dire d'un facteur d'environ 150. Ce processus a préalablement été expliqué par Yuan et Favis, les branches les plus fines se déversant dans les branches voisines tout au long du recuit, ce qui mène à l'épaississement de la taille des interconnexions des phases (Yuan & Favis, 2005). Inversement, l'aire interfaciale spécifique décroît avec le temps de recuit, de $5800 \pm 300 \text{ cm}^{-1}$ pour 0 min à $45 \pm 3 \text{ cm}^{-1}$ pour 90 min de recuit, c'est-à-dire d'un facteur d'environ 130. Ces évolutions sont montrées à la Figure 3.2. En effet, plus la taille des faisceaux interconnectés est faible, plus la surface entre les phases va être importante.



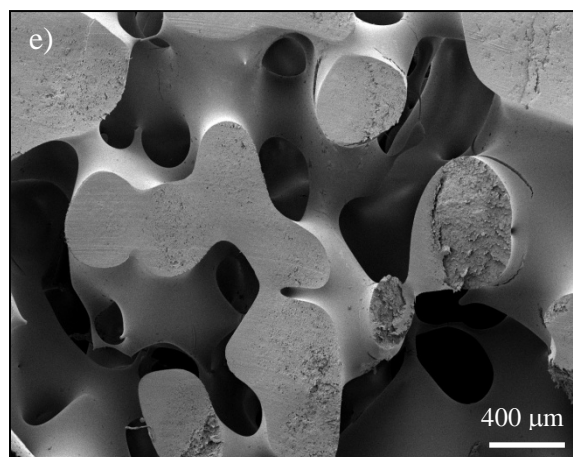


Figure 3.1 : Images MEB présentant la microstructure interne des matériaux polylactide (PLA) poreux réalisés à partir d'un mélange polylactide/polystyrène (PLA/PS) 50/50 % vol. dans un mélangeur interne : a) $t_{\text{recuit}} = 0$ min (sans recuit) ; b) $t_{\text{recuit}} = 10$ min ; c) $t_{\text{recuit}} = 30$ min ; d) $t_{\text{recuit}} = 60$ min and e) $t_{\text{recuit}} = 90$ min.

Tableau 3.1 Co-continuité de la phase de PS, aire interfaciale spécifique S' et taille de pore moyenne d en fonction du temps de recuit statique pour les échantillons préparés avec le mélangeur interne

Temps de recuit (min)	Co-continuité PS (%)	Aire interfaciale spécifique S'^a (cm ⁻¹)	Taille de pore moyenne d^b (μm)
0	96 ± 3	5800 ± 300	3 ± 0.2
10	95 ± 2	900 ± 100	22 ± 2
30	97 ± 1	198 ± 3	101 ± 2
60	96 ± 2	100 ± 10	200 ± 20
90	101 ± 2	45 ± 3	444 ± 30

^a (Galloway, et al., 2002) and ^b (Li & Favis, 2001).

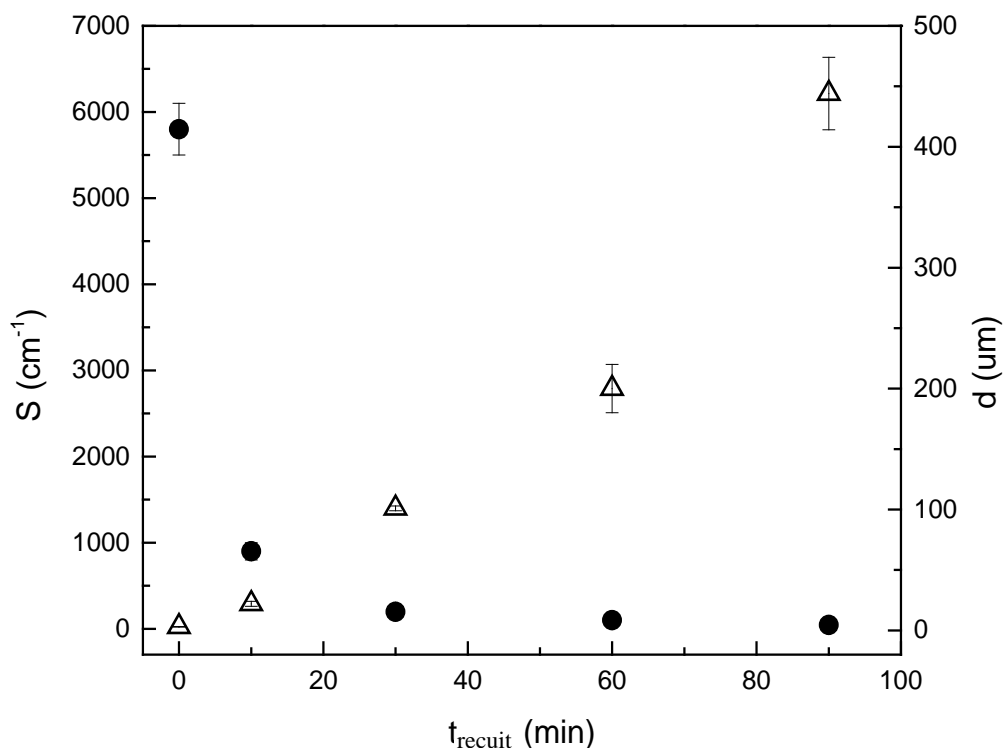


Figure 3.2 : Évolution de l'aire interfaciale spécifique S' (●) et de la taille de pore moyenne d (Δ) en fonction du temps de recuit statique t_{recuit} .

Les barreaux réalisés par extrusion suivi du moulage par injection ont subi des recuits de 0, 10, 20 et 30 min. Ils prouvent que le procédé de fabrication d'hydrogels poreux co-continus est réalisable à plus grande échelle par l'utilisation d'équipements industriels (dimensions des barreaux : $0.95 \text{ cm} \times 1.25 \text{ cm} \times 6.3 \text{ cm}$). L'étude de la morphologie en fonction du temps de recuit demeure pour l'instant qualitative (Figure 3.3). Les images micrographiques démontrent une augmentation de la porosité avec le temps de recuit comme pour les échantillons cubiques. On observe quelques dizaines de micromètres pour 10 min de recuit jusqu'à quelques centaines de micromètres pour 30 min de recuit. Des calculs d'aires interfaciales spécifiques et de tailles de pore moyennes à partir des équations 26 et 27 seront prochainement réalisés à partir de ces images. Le Tableau 3.2 rassemble les résultats des calculs de la co-continuité de la phase PS. Le temps de recuit 0 min n'a pas de résultat puisque l'extraction était quasiment nulle pour ces barreaux. On remarque également quelques difficultés pour l'extraction des barreaux recuits pendant 10 min avec seulement $86 \pm 2 \%$ de co-continuité. Il ne faut cependant pas oublier que ces échantillons sont près de 15 fois plus volumineux que les cubes réalisés précédemment au

mélangeur interne et qu'ils ont été extraits dans les mêmes conditions. Un temps prolongé améliorerait peut-être les résultats.

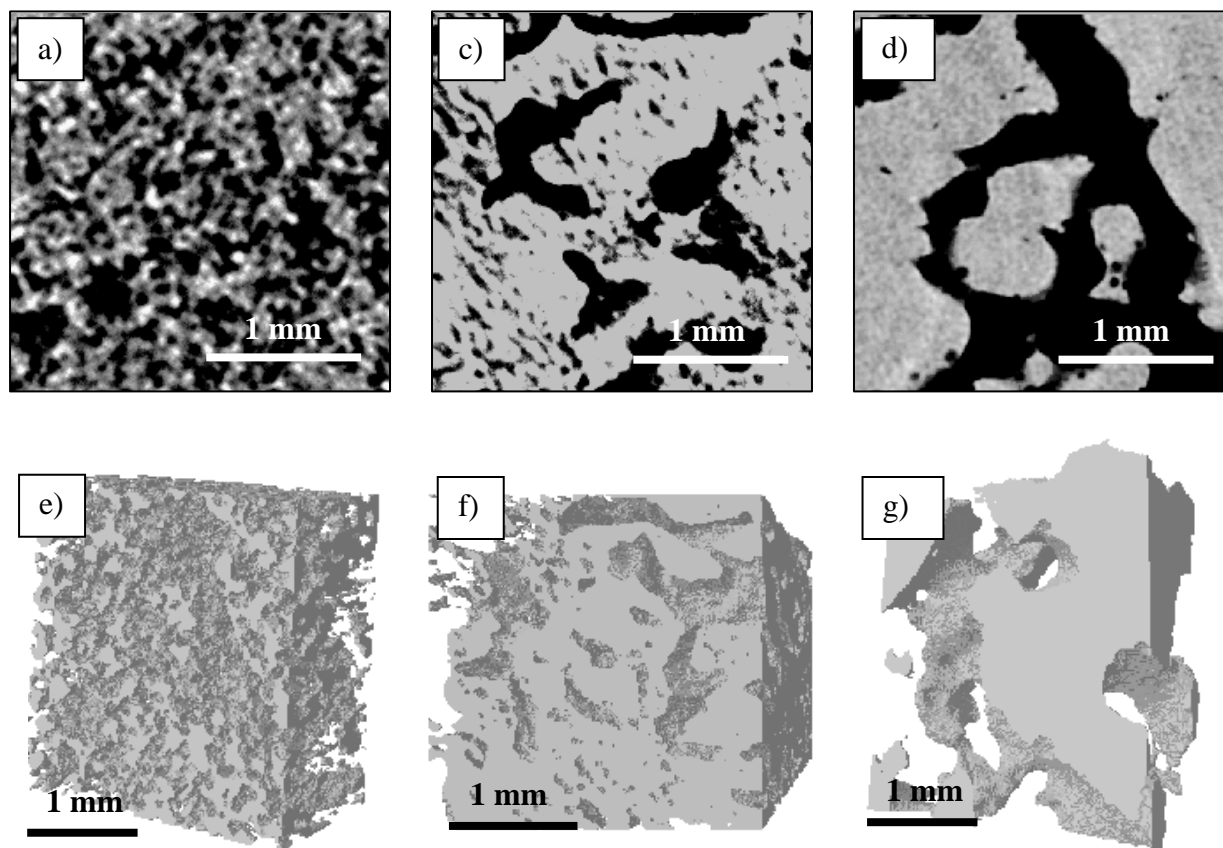


Figure 3.3 : Images microtomographiques 2-D et 3-D des barreaux de PLA poreux préparés par extrusion/injection avec un mélange PLA/PS 50/50 %vol. pour un recuit de : a) et e) 10 min; c) et f) 20 min et d) et g) 30 min (les barres blanches et noires correspondent à 1 mm).

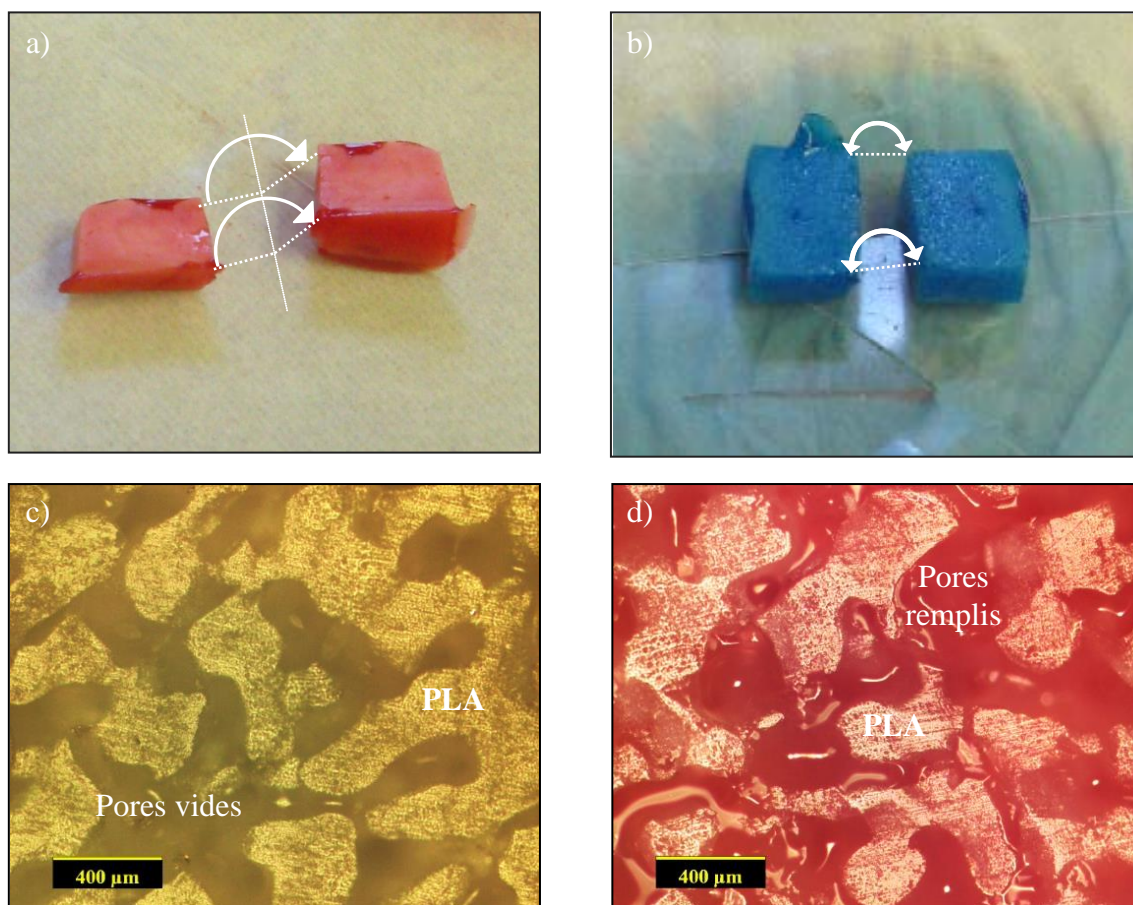
Tableau 3.2 : Co-continuité de la phase de PS en fonction du temps de recuit statique pour les barreaux préparés par extrusion/injection.

Temps de recuit (min)	Co-continuité PS (%)
0	-
10	86 ± 2
20	93 ± 1
30	95 ± 2

Les moules de PLA poreux cubiques et les barreaux, serviront par la suite à l'injection des hydrogels.

3.2 Étude de l'injection des hydrogels dans les moules de PLA poreux

Pour l'injection des hydrogels (agar et alginate) dans les moules de PLA poreux, un système simple a été utilisé (Figure 3.4). La coloration de l'agar en rouge et de l'alginate en bleu a permis de faciliter les observations, car ces gels sont initialement incolores. Dans les cas des échantillons poreux cubiques (0.8 cm de côté) réalisés avec le mélangeur interne, des photos au cœur de leur volume ont permis une première appréciation de l'efficacité du système d'injection. À l'échelle 1 : 1, tous les échantillons de PLA recuits semblent être entièrement remplis, exceptés les échantillons de 10 min de recuit et moins pour l'alginate (Figure 3.4 : a, b et f). Des micrographies prises à l'aide d'un microscope optique ont permis de confirmer ces hypothèses (Figure 3.4 : c, d et e).



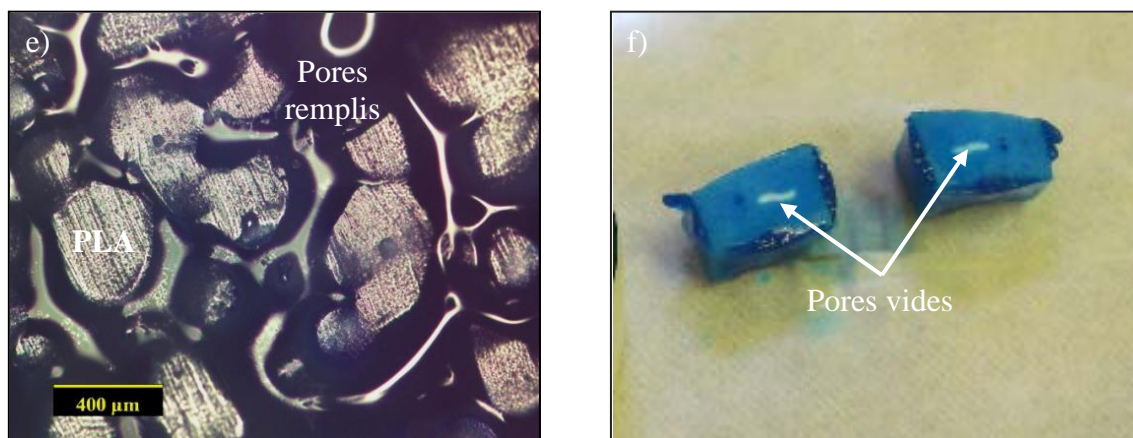


Figure 3.4 : a) Image au cœur du volume d'un moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 10 \text{ min}$) injecté avec de l'agar (en rouge); b) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$) injecté avec de l'alginate (en bleu); c) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$) vide (microscope optique); d) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$) injecté avec de l'agar (en rouge) (microscope optique); e) idem que (d) sauf injecté avec de l'alginate (en bleu); f) moule poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 10 \text{ min}$) injecté avec de l'alginate (en bleu) montrant le cœur du volume non injecté (en blanc).

Des observations assez similaires ont été faites pour les barreaux, à l'exception que l'alginate semble pénétrer entièrement dans les échantillons seulement à partir d'un recuit de 20 min (Figure 3.5) avec le système d'injection manuel. Pour l'agar la solution semblait mieux s'injecter, mais pas suffisamment pour remplir entièrement les barreaux de 10 min de recuit et moins. Lors de l'injection les deux solutions d'agar et d'alginate étaient à une température de 80°C, température qui rend la solution «sol» de l'agar très fluide (à 3 wt%), mais celle de l'alginate semble rester très visqueux (2 wt%) ce qui limite l'injection.

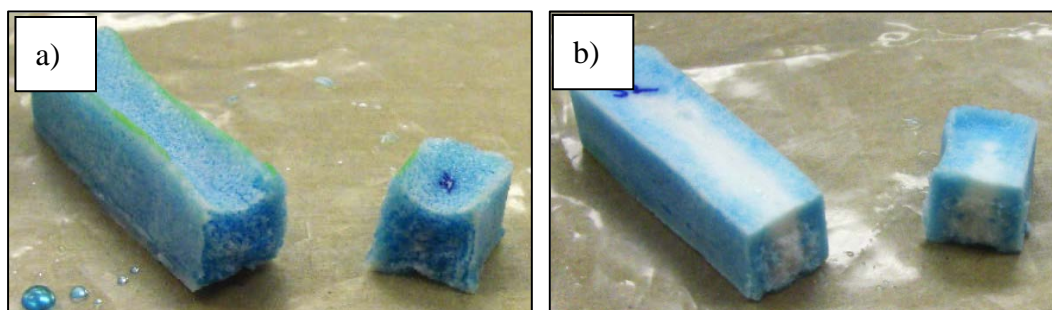


Figure 3.5 : a) Moule poreux de PLA sous forme de barreaux ($t_{\text{recuit}} = 20 \text{ min}$) injecté avec de l'alginate (en bleu) ; et b) remplissage incomplet d'un barreau ($t_{\text{recuit}} = 10 \text{ min}$) injecté avec de l'alginate (en bleu) et le cœur du volume non injecté (en blanc).

3.3 Analyse de la microstructure des hydrogels poreux

Après le moulage des hydrogels dans le PLA poreux, ces derniers ont été sélectivement dissous avec du chloroforme, puis les hydrogels poreux ont été rincés et conservés dans l'eau (agar) ou une solution de lactate de calcium (alginate). La microstructure des hydrogels résultants ne pouvant être observée de la même manière que celle des polymères à cause de leur forte proportion en eau, la microtomographie a été utilisée. Il est important de rappeler que les gels observés ont préalablement été éponnés sur papier absorbant pendant 30 secondes. Dans un premier temps, les dimensions générales des gels ont été comparées aux dimensions des moules polymères.

D'après les photographies de la Figure 3.6, les cubes d'hydrogels semblent avoir conservées les dimensions de leurs moules. Les images microtomographiques (Figure 3.7) montrent que les dimensions des porosités sont également similaires à celles des moules PLA utilisés. En effet, si l'on compare ces images à celle du PLA poreux du même recuit prise au MEB (Figure 3.1.d), on remarque que les tailles de pore moyennes sont du même ordre de grandeur (environ 200 μm). Pour ces échantillons poreux issus de recuit de 60 min, ces hypothèses ont été vérifiées par le calcul du diamètre de pore moyen et de l'aire interfaciale spécifique reportés dans le Tableau 3.3. Il faut tenir compte du fait que les résultats peuvent varier en fonction du taux d'extraction de l'eau de l'hydrogel. En effet, comme il n'y a pas de différenciation entre l'eau et l'hydrogel pour les rayons X, s'il n'y a pas assez d'eau extraite des échantillons, cela résulte en l'observation finale d'une structure qui semble peu poreuse (eau présente dans les porosités). Ou au contraire, si trop d'eau est prélevée, l'hydrogel poreux va apparaître avec des faisceaux dont la taille de pore moyenne semble plus petite, comme ça pourrait être le cas pour l'alginate (Figure 3.7 : b et d). Ce phénomène est peut-être lié au fait que l'alginate a été conservé dans une fiole contenant du chloroforme (utilisé pour la dernière extraction), car des gouttes d'eau apparaissaient en surface de cette solution. Aussi, la diminution de la taille des faisceaux interconnectés de cet alginate est peut-être liée à un dégorgement d'eau dans le solvant.

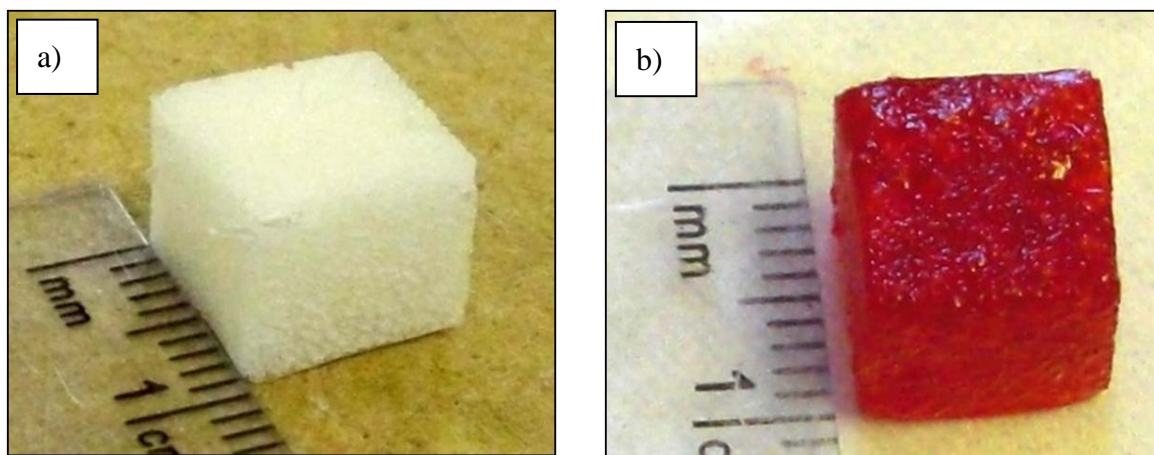


Figure 3.6 : a) Photographies de cube poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) et b) agar (en rouge) poreux moulé à partir de (a).

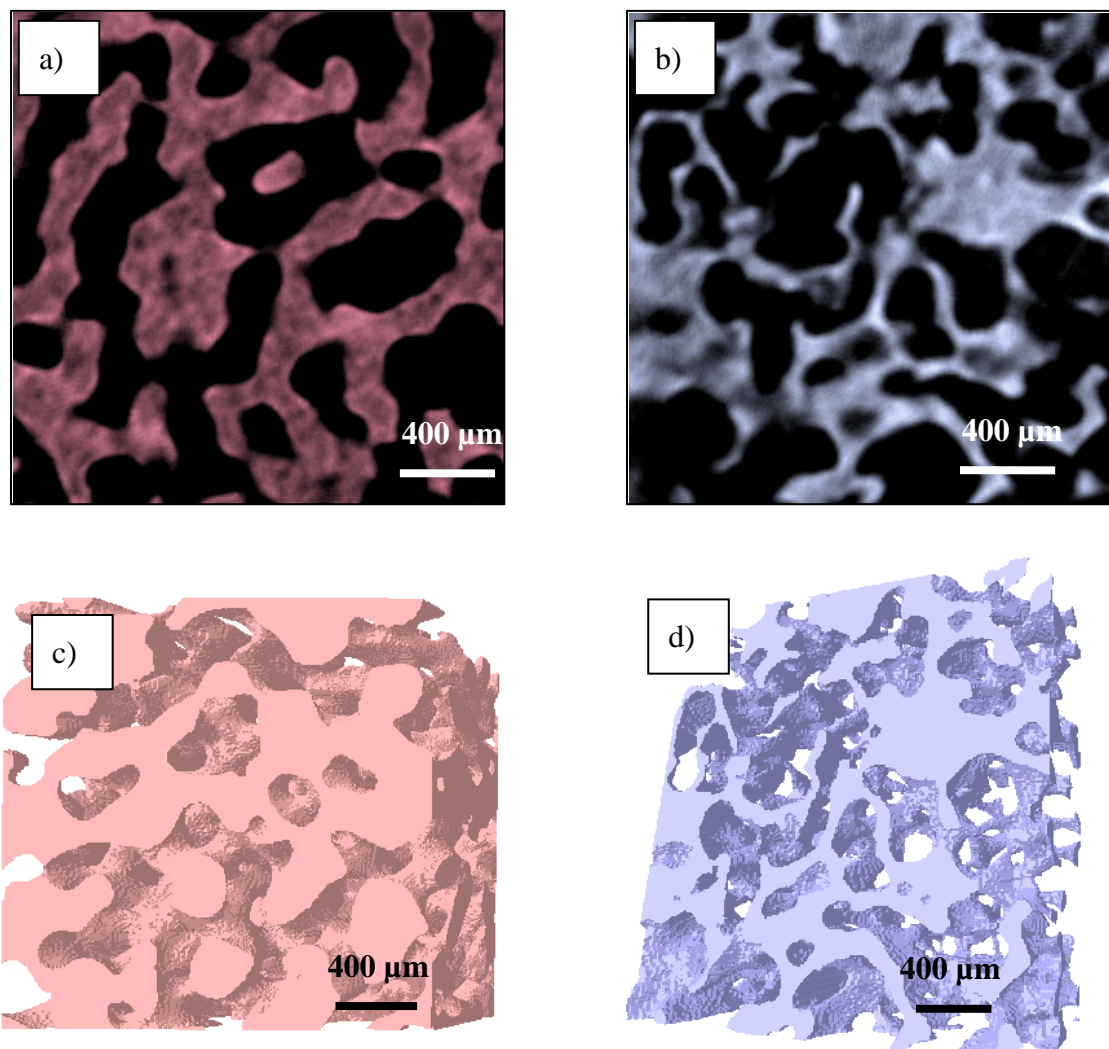


Figure 3.7 : Images microtomographiques 2-D et 3-D du centre du volume des échantillons d'hydrogels cubiques (0.8 mm de côté) moulés à partir de structures PLA poreuse ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) : a) et c) agar (en rouge); b) et d) alginate (en bleu).

Tableau 3.3 : Aire interfaciale spécifique S et taille de pore moyenne d des échantillons polymère et hydrogel poreux obtenus à partir des échantillons préparés par mélangeur interne avec recuit statique de 60 min :

Matériaux poreux issus d'un recuit de 60 min	Aire interfaciale spécifique S' (cm^{-1})	Taille de pore moyenne d (μm)
PLA	100 ± 10	200 ± 20
Agar	~ 70	~ 285

Pour les barreaux les dimensions globales semblent pouvoir être conservées également dans le cas des deux gels utilisés (Figure 3.8). Les images microtomographiques de la Figure 3.9 montrent les deux structures hydrogels résultantes poreuses, avec des tailles caractéristiques du même ordre. Cependant leurs tailles de pore moyennes ne semblent pas complètement identiques à celles du moule PLA (Figure 3.9 : a). Les réseaux interconnectés de l'agar paraissent plus épais, alors que ceux de l'alginate semblent un peu plus fins. Cet effet pourrait être lié à la désorption de l'eau préalable à la microtomographie. De l'eau encore présente dans les porosités de l'agar pourrait induire des artefacts. L'alginate au contraire semble, comme précédemment (Figure 3.9 : b et d), avoir une porosité supérieur à 50 vol%. Néanmoins, dans ce cas l'échantillon a bien été conservé dans de l'eau avec des ions calcium en concentration 2 wt%. Une autre explication plausible serait que l'eau pourrait diffuser de l'alginate plus rapidement dans le papier absorbant, mais ceci reste à démontrer.

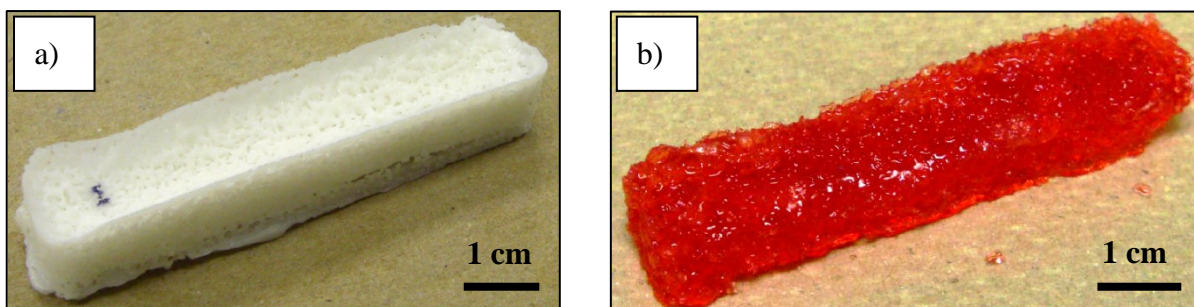


Figure 3.8 : a) Barreau poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$) et b) agar (en rouge) poreux moulé à partir de (a).

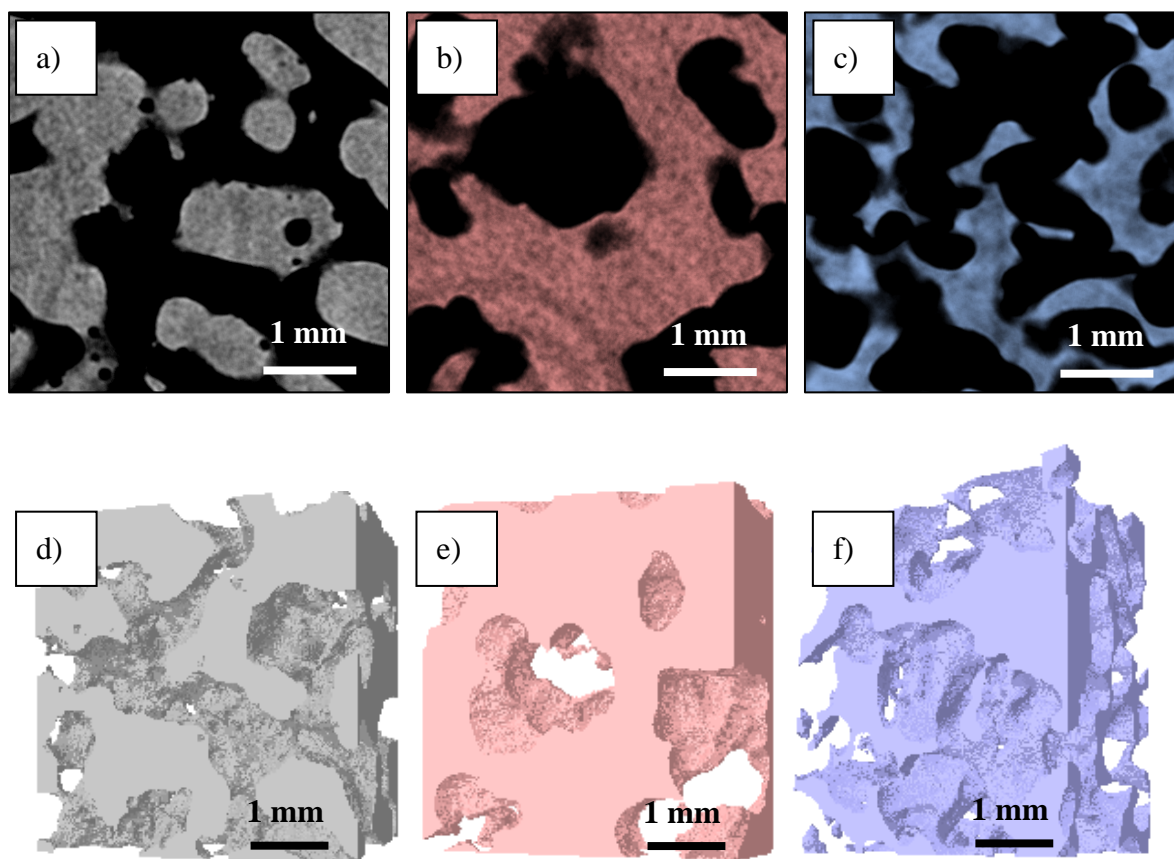


Figure 3.9 : Images microtomographiques 2-D et 3-D du centre du volume des barreaux d'hydrogels moulés à partir de structures PLA poreuse ($t_{\text{recuit}} = 30 \text{ min}$) : a) et b) PLA (en gris); b) et e) agar (en rouge); c) et f) alginate (en bleu).

3.4 Lyophilisation, réhydratation et stérilisation

La lyophilisation des gels poreux d'agar et d'alginate a été effectuée et les dimensions globales des échantillons paraissent peu changées (Figure 3.10). La Figure 3.10.b montre néanmoins l'apparition de légères fissures dans le volume qui pourraient fragiliser la structure finale. Cette observation peut être attribuable à la trempe dans l'azote liquide qui est appliquée avant la lyophilisation. Il se pourrait qu'un changement brutal de température altère la structure, mais cela reste également à prouver.

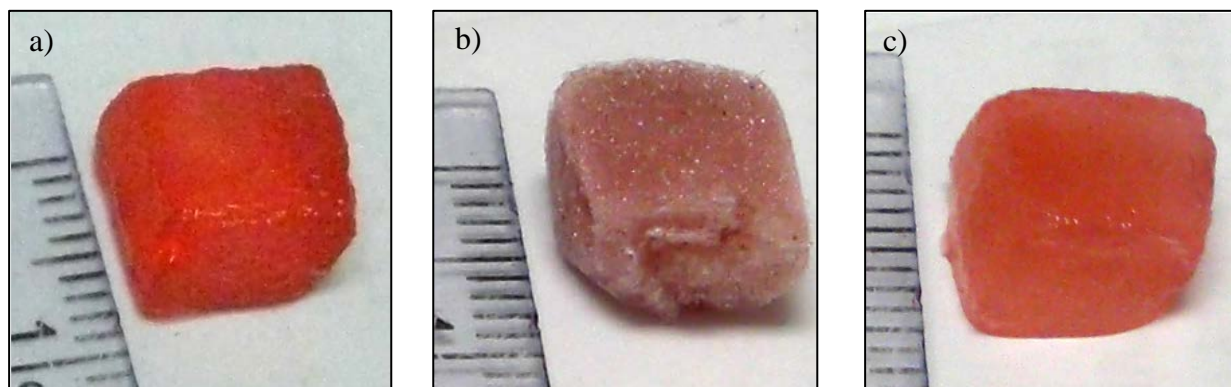


Figure 3.10 : Échantillon cubique d'agar poreux réalisé à partir d'un moule PLA ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) : a) indem, b) lyophilisé et c) lyophilisé puis réhydraté.

Les images SEM de la Figure 3.11 montrent la microstructure de l'agar et de l'alginate lyophilisées en leur centre (cubes $t_{\text{recuit}} = 60$ min). On remarque que les interconnexions des gels sont très fines et certainement liées à l'extraction complète de l'eau. En effet, les hydrogels n'étant qu'à 3 wt% (agar) et 2 wt% (alginate) dans l'eau et seulement à 50 vol% dans l'échantillon final hydraté, après extraction de l'eau il ne reste que très peu de matière solide.

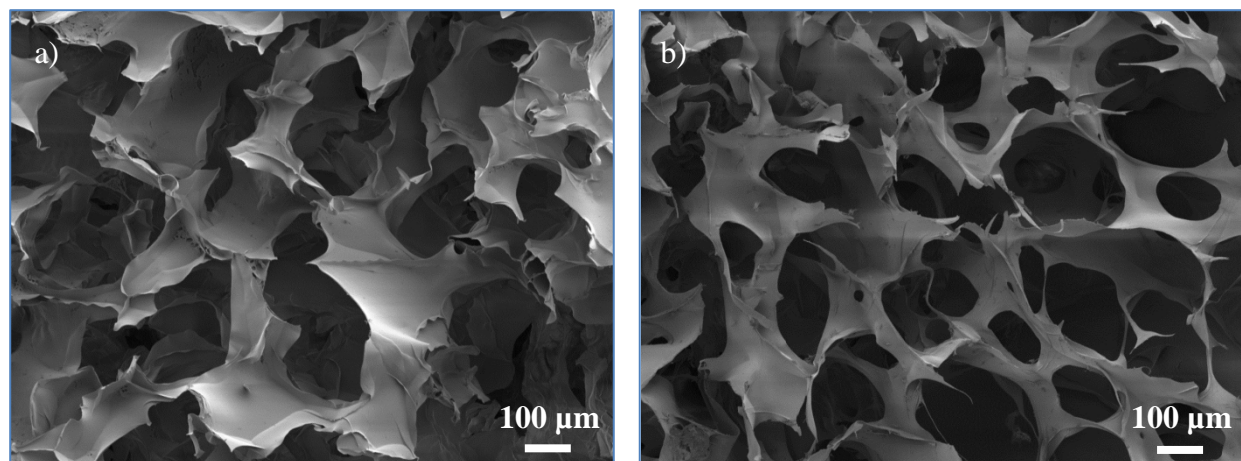


Figure 3.11 : Images MEB des hydrogels lyophilisés, a) d'agar et b) d'alginate, moulés à partir de structures PLA poreuses cubiques ($t_{\text{recuit}} = 60 \text{ min}$).

Par la suite, les gels lyophilisés ont été réhydratés en les trempant directement dans de l'eau déionisée. Les micrographies de l'échantillon d'agar de la Figure 3.12 démontrent une diminution de la taille de pore moyenne après lyophilisation et après réhydratation. Il semblerait que les interconnexions gélifiées aient rapetissé lors de la lyophilisation et que cette déformation soit permanente. En effet, la structure après réhydratation en (c) ressemble à celle en (b) sauf que les réseaux gélifiés sont plus épais (gorgés d'eau).

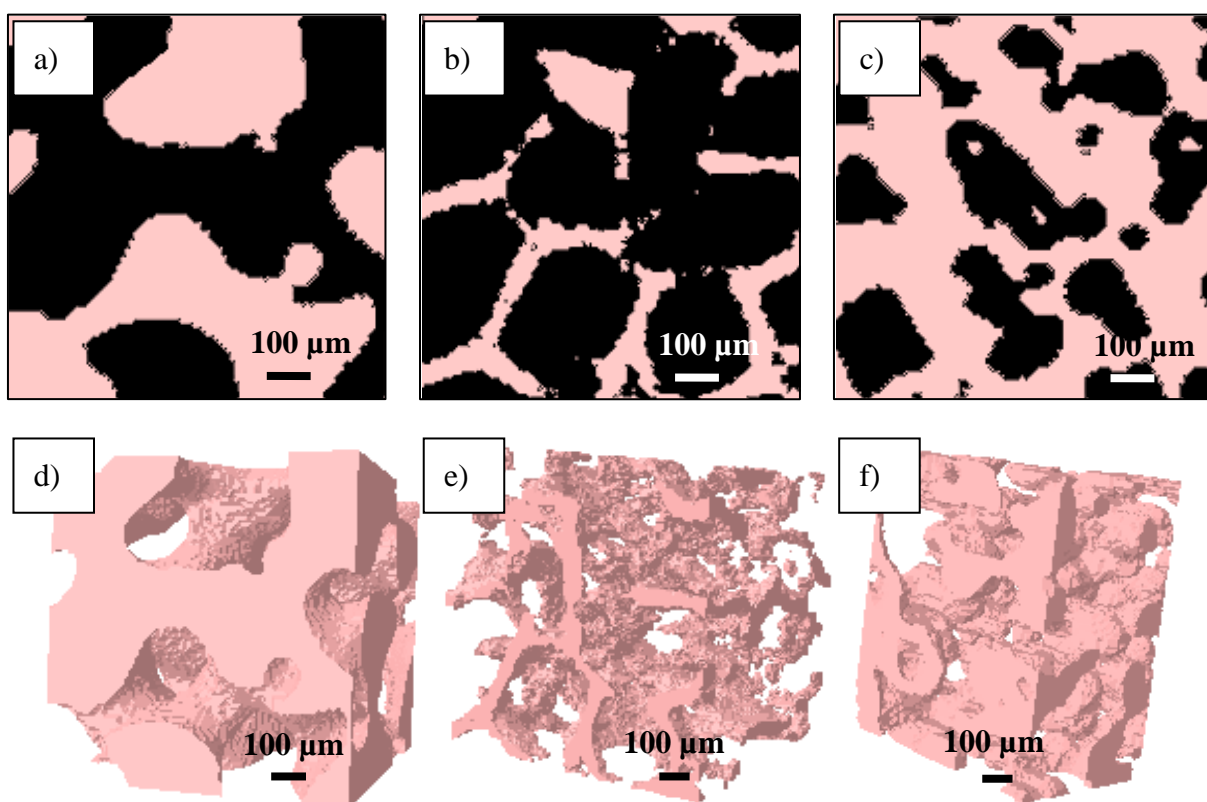


Figure 3.12 : Images microtomographiques binarisées 2-D et 3-D de : a) et d) un échantillon cubique d'agar poreux réalisé à partir d'un moule PLA ($t_{\text{recuit}} = 60 \text{ min}$); b) et e) l'échantillon en (a) lyophilisé et c) et f) l'échantillon en b) réhydraté.

Les essais de stérilisation avec vérification sur gélose nutritive (GN) et gélose cœur et cerveau (GCC), avec les hydrogels poreux moulés à partir d'un PLA poreux ($t_{\text{recuit}} = 60 \text{ min}$), sont très concluants pour les deux méthodes de stérilisation (Figure 3.13). Aucune apparition de colonie bactérienne n'a eu lieu après 24h à 35°C contrairement à un échantillon lyophilisé non

stérilisé (Figure 2.5 : a et c). Que ce soit par autoclave ou bain d'éthanol/méthanol (85/15 vol%), les gels poreux sont correctement stérilisés en vue d'application à l'ingénierie tissulaire. Néanmoins, l'agar ne peut être stérilisé à l'autoclave à 120°C et conserver sa microstructure puisque sa température de fusion est de 85°C. La méthode alternative serait une stérilisation dans des bains successifs d'éthanol après lyophilisation, laquelle s'est montré efficace sur des échantillons poreux d'alginate (Figure 3.14).

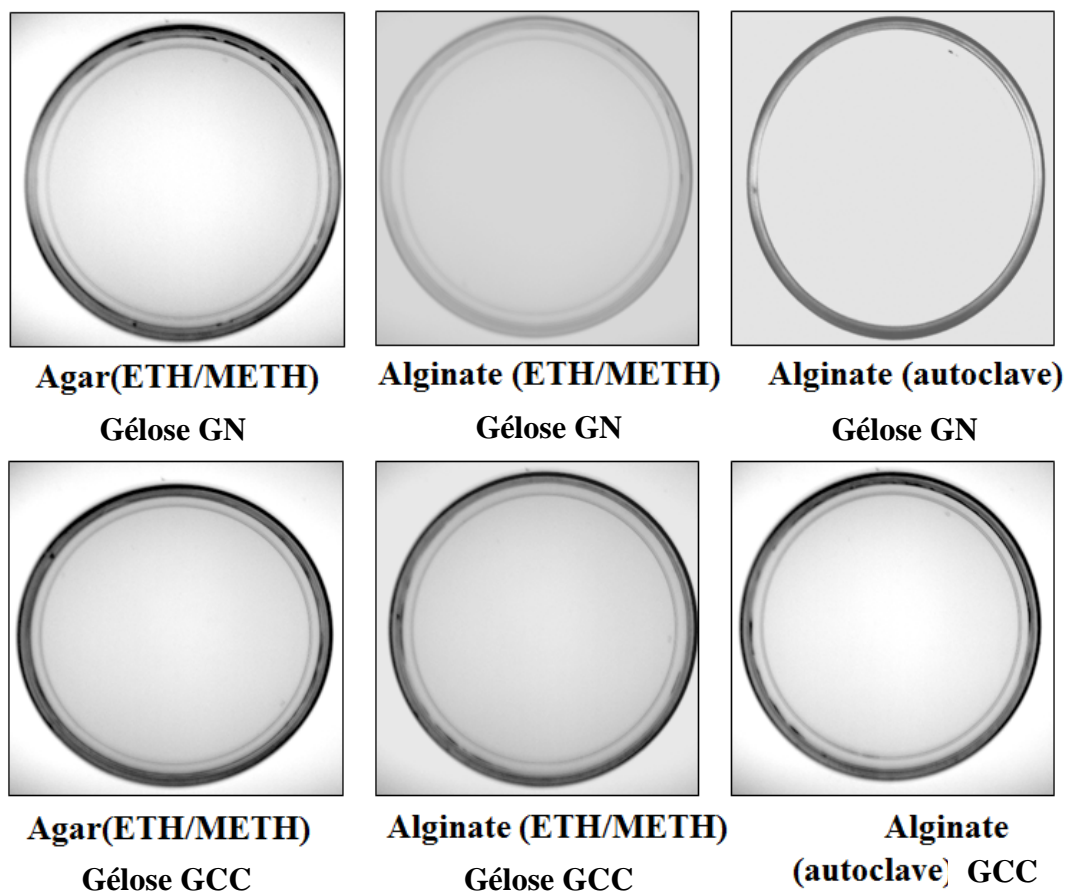


Figure 3.13 : Résultats des essais de stérilisation pour les différents hydrogels.

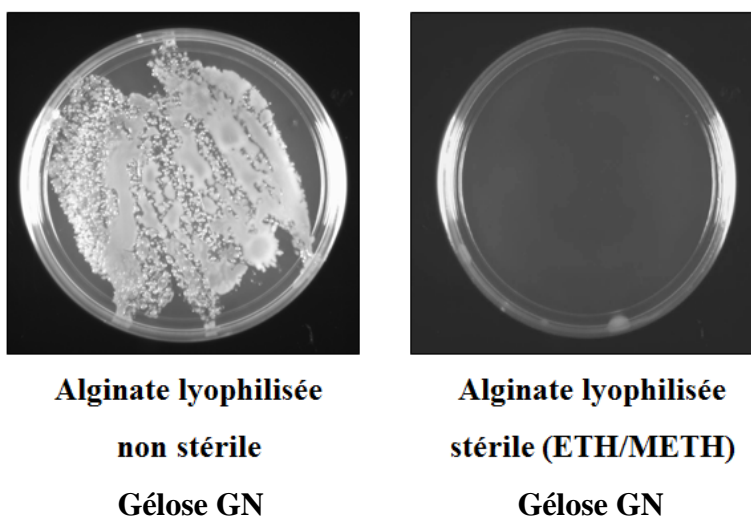


Figure 3.14 : Résultat des essais de stérilisation d'un hydrogel poreux lyophilisé et ce même échantillon après un bain d'éthanol/méthanol (85/15 vol%).

Des analyses Infra-rouge à Transformée de Fourier (IRTF) ont été réalisées à l'aide d'une unité Spectrum 65 couplé à un microscope Spotlight 400 tous deux de la compagnie Perkin Elmer. Ces essais ont eu lieu dans le laboratoire de la chaire industrielle CRSNG/Saputo/Excel-Pac en matériaux et films pour un emballage sécuritaire, intelligent et durable à l'École Polytechnique de Montréal. Ils ont été réalisées pour vérifier si les hydrogels poreux finaux ($t_{\text{recuit}} = 60$ min) possédaient des traces de solvants utilisés pour les extractions (toluène et chloroforme). Les analyses sont apparues négatives (ANNEXE 3). Il n'y a pas d'absorbance caractéristique des solvants qui est apparue sur les spectres des hydrogels poreux.

3.5 Étude qualitative des tests en compressions sur des hydrogels poreux et non poreux

Cette partie est concentrée sur une étude préliminaire semi-quantitative du comportement en compression des structures poreuses hydrogels issues des barreaux poreux de PLA ($t_{\text{recuit}} = 20$ min et 30 min) en comparaison avec des gels de même composition sans porosité. Seuls ces échantillons ont été observés car les autres recuits n'ont pas pu être injectés dans leur intégralité avec le système d'injection manuel. Les courbes contraintes-déformations des échantillons montrent généralement une résistance en compression légèrement meilleure pour les hydrogels poreux issus de PLA poreux recuit à 20 min plutôt qu'à 30 min (Figure 3.15). La Figure 3.16

montre que la présence de porosité diminue significativement la résistance des matériaux en comparaison d'échantillon plein. En effet, pour un hydrogel plein d'agar (cube de 5 mm de côté) une contrainte d'environ 30 kPa est nécessaire (rampe de 0.4 kPa/min) pour arriver à une déformation de 50%. En comparaison, les hydrogels poreux d'agar nécessitent seulement 1 à 2 kPa pour une même déformation. L'alginate présente des résultats très similaires (ANNEXE 4). Cette observation est cohérente, car les hydrogels poreux étudiés ne possèdent théoriquement que 50 % vol de gels, ils comportent donc deux fois moins de matière.

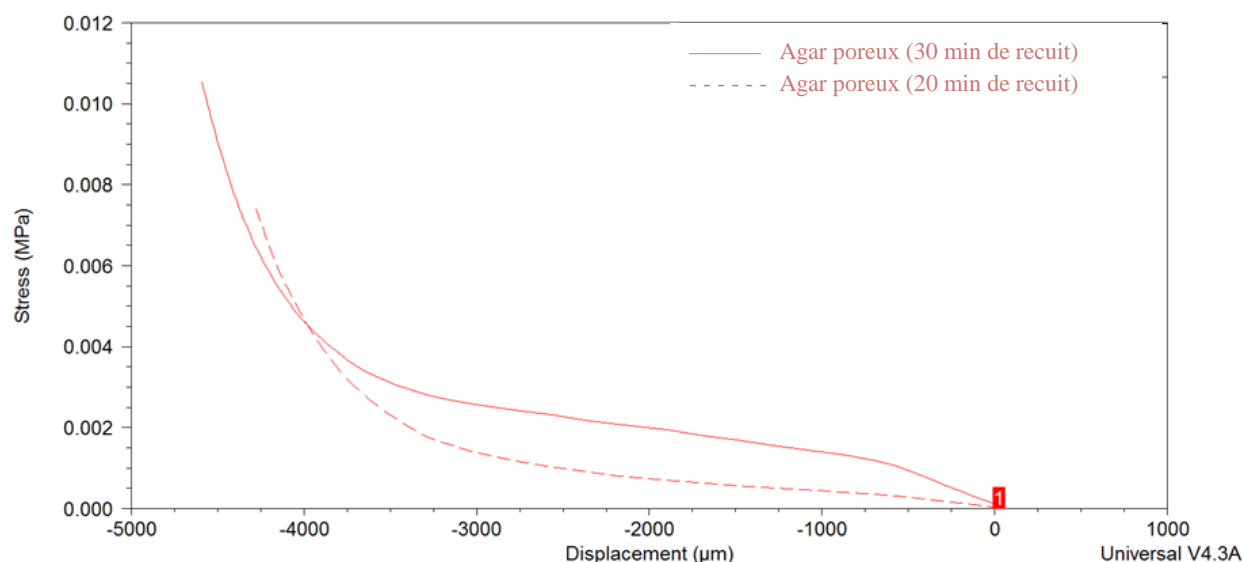


Figure 3.15 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.

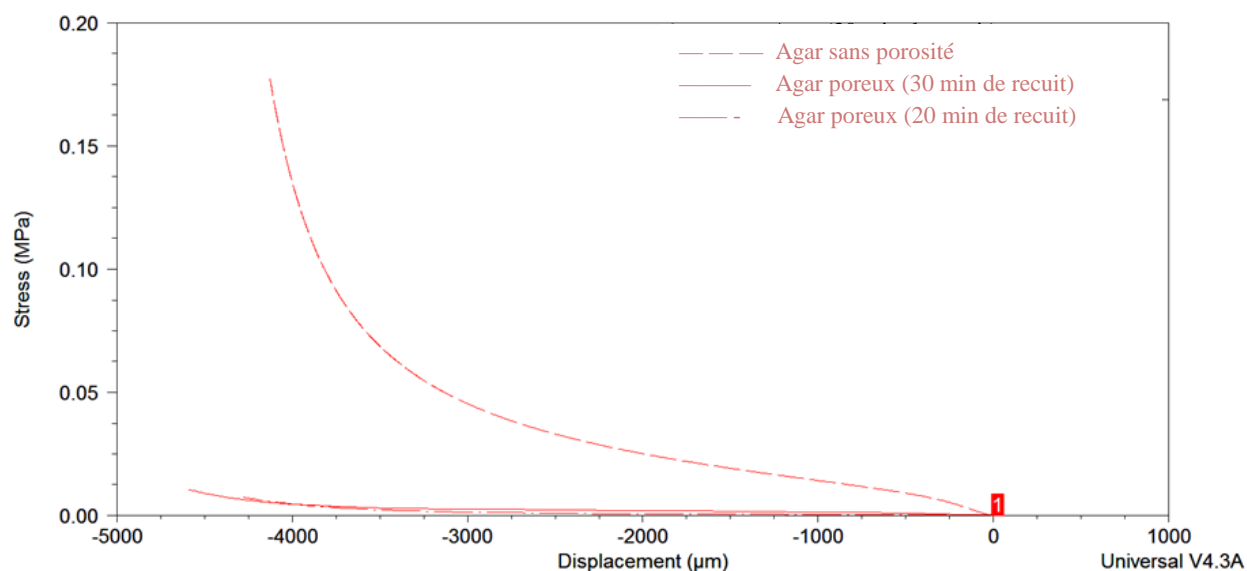


Figure 3.16 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit et d'agar sans porosité.

3.6 Discussion générale

Ce projet a permis l'élaboration d'une nouvelle méthode de préparation d'hydrogels comportant des porosités interconnectées en vue d'application dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, à partir de moules polymères poreux préparés depuis des mélanges de polymères co-continus. Il a mené à l'établissement d'un brevet (en cours), la rédaction d'un article scientifique (soumis prochainement à *Journal of the American Chemical Society* ou *Biomaterials*, deux périodiques scientifiques avec d'importants facteurs d'impact) avec la possibilité d'un deuxième article dans les semaines à venir.

Des moules PLA à partir d'un mélange PS/PLA, comportant des porosités interconnectées avec des tailles de pore moyennes variant de quelques μm à quelques centaines de μm , ont été préparés avec succès. Le système d'injection manuel élaboré a permis l'injection de la majorité des moules avec de l'agar et de l'alginate. Néanmoins, des observations à l'œil nu et au microscope optique du centre des échantillons, ont montrées des injections incomplètes dans les porosités inférieures à 20 μm pour les échantillons cubiques et inférieurs à environ 300 μm pour les barreaux. Plus la taille de pore moyenne est faible et/ou l'échantillon est volumineux, plus les injections étaient difficiles. Un système d'injection un peu plus élaboré pouvant appliquer des pressions supérieures à de simples pressions manuelles, devrait pouvoir résoudre ce problème. L'extraction de la phase de PLA finale avec du chloroforme a été très efficace et la microstructure des porosités des gels a pu être observée par images microtomographiques. Cependant, les résultats obtenus sont dépendant de la proportion d'eau résorbée sur papier absorbant préalable à l'analyse. En effet, les rayons X ne permettent pas la différenciation entre l'eau et les hydrogels gorgés d'eau. Il faut donc retirer l'eau des pores si l'on veut obtenir un contraste entre la porosité et le gel. Si l'eau est trop résorbée il y a une modification évidente de la morphologie. Des échantillons laissés trop longtemps sur un papier absorbant ont montré un écrasement de la structure. Ce point devra ainsi être étudié par la suite. Par la suite, les essais de stérilisation ont démontrés des résultats satisfaisants en vue d'applications à l'ingénierie tissulaire, mais la morphologie des échantillons après lyophilisation et réhydratation devra être caractérisée de plus près. Enfin, la réalisation des barreaux a permis de démontrer la faisabilité de

ces matériaux à grande échelle. Le procédé d'extrusion suivi du moulage par injection semble cependant fragiliser les échantillons. Les coupes à la lame de rasoir étaient moins nettes que les cubes poreux de PLA, les barreaux s'effritaient légèrement (Figure 3.4 et 3.5). Il est important de souligner que le procédé de moulage par injection impliquait ici la formation d'une « peau » en surface des échantillons moulés non recuits. Cela pourrait être une couche de PLA ce qui expliquerait les problèmes d'extraction de la phase PS pour les barreaux sans recuit.

D'autres essais, non concluants, ont été menés au cours de ce projet, mais il est certainement important de signifier les raisons pour la poursuite des travaux. Initialement deux mélanges de polymères ont été sélectionnés, le PLA/PS et le polycaprolactone/polystyrène (PCL/PS). Ce dernier n'a pas été conservé, car l'épaississement de ces phases au cours des recuits statiques est beaucoup plus lent, pour un recuit de 30 min à 190°C la taille de pore moyenne après extraction du PS est d'environ 10 µm contre environ 100 µm pour le mélange PLA/PS. De plus, la température de fusion du PCL étant aux alentours de 60°C l'injection de l'agar ($T_f \sim 85^\circ\text{C}$) est alors impossible.

Pour la préparation du « sol » (eau + poudre d'agar ou d'alginate) différentes concentrations ont été initialement préparées 1, 2 et 3 wt%. Bien que ces hydrogels puissent gélifier en-dessous de 1 wt% (Medina-Esquivel, Freile-Pelegrin, Quintana-Owen, Yáñez-Limón, & Alvarado-Gil, 2008; Zhao, et al., 2011), il était intéressant ici d'utiliser la proportion la plus importante pour améliorer les propriétés mécaniques et ainsi faciliter les manipulations. Néanmoins, il n'a pas été possible de prendre l'alginate à 3 wt% car son augmentation de viscosité pour cette concentration le rendait impraticable. Les « sols » ont également été préparés essentiellement avec de l'eau distillée, car l'eau courante possède des ions calcium qui interagissent avec l'alginate.

Les solvants pour l'extraction des phases polymères ont été choisis méthodiquement afin qu'ils dissolvent le plus rapidement possible les polymères souhaités, mais qu'ils n'altèrent pas la phase que l'on souhaite conserver. C'est-à-dire, le PLA pour la première extraction et l'hydrogel dans la deuxième. De nombreux tests sur les matériaux (sous forme de granules) ont été menés et les résultats obtenus apparaissent dans le tableau 3.4. Pour la première extraction (celle du PS) le toluène semblait prometteur cependant, certains cubes et barreaux des échantillons ont fissurés. L'hypothèse est que l'extraction est peut-être trop rapide, voilà pourquoi le cyclohexane a

finalement été utilisé. Pour les hydrogels, l'alginate a gonflé dans l'eau courante tandis que l'acide acétique glacial a agi à l'inverse sur les deux gels. En effet, des billes d'hydrogels ont rapetissées dans l'acide acétique glacial, mais elles retrouvaient leur taille normale une fois replongées dans de l'eau distillée. Cependant, ce solvant n'a tout de même pas été utilisé pour la démonstration des concepts de préparation des gels poreux.

Tableau 3.4 : Efficacité de différents solvants sur les matériaux hydrogels et polymères concernés dans cette étude.

	Cyclohexane	Toluène	Acide acétique glacial	Hexane	Chloroforme	Eau courante	Eau distillée
Agar Agar (1.2wt%)	AAA	AAA*	X	AAA	AAA	AAA	AAA
Alginate (0.3wt%)	AA	AA*	X	AA	AA	A	AAA
PLA	AAA	AAA	A	AAA	XX*	AAA	AAA
PS	XX	XXX*	AAA	X	XX*	AAA	AAA
PCL	AAA	XX*	XX	AAA	XX*	AAA	AAA

avec AAA excellente résistance, AA bonne résistance, A résistance médiocre, X dissolution, XX dissolution rapide, XXX dissolution plus rapide, * meilleure résistance ou dissolution.

La théorie de Brunauer-Emmett-Teller (BET) a également était utilisée pour réaliser les mesures de porosités cependant, des résultats incohérents ont été obtenus. Ceci est peut être lié au fait que certaines aires interfaciales sont très faibles et que les échantillons associés auraient nécessité une masse plus élevée que celle autorisée dans le BET (< 5 grammes).

En dernier lieu, il est important de préciser que cette méthode devrait pouvoir être appliquée aisément à toutes les familles de gels. Cependant, des volumes important pourraient, poser certains problèmes pour les hydrogels ioniques (par exemple), pour lesquels les ions responsables de la gélification ont besoin de diffuser dans tout l'échantillon. Un grand nombre d'applications, en plus de celles liées à l'ingénierie tissulaire, pourrait ainsi être intéressé par ce procédé de fabrication.

CONCLUSION

Ces travaux effectués dans le cadre d'une maîtrise ont permis de découvrir une nouvelle voie pour la fabrication d'hydrogels comportant des porosités interconnectées. Bien qu'un grand nombre de méthode existent déjà, les mélanges de polymères sont utilisés comme moule pour leur fabrication pour la première fois. Ce concept apporte un grand nombre d'avantages, puisque l'association de polymères fondus a été largement étudiée et permet ainsi de nombreuses possibilités. En effet, cette méthode permet de rendre accessible de larges gammes de taille de pore moyenne, de fraction volumique de porosité, mais également de dimensions. La taille moyenne des porosités peut aller de moins d'un micromètre à plus d'un millimètre, sa fraction de 10 à 90 vol% et les dimensions d'un objet de l'ordre du millimètre à plusieurs centimètres dépendamment de la pression d'injection. De plus, dans cette étude seulement des hydrogels naturels ont été étudiés, mais d'autres hydrogels (chimiques et physiques), des organogels ou encore des combinaisons auraient pu être employés. L'utilisation de l'extrusion et de l'injection montrent que les moules polymères peuvent être fabriqués à grande échelle et peuvent posséder une grande variété de taille et de forme. Les analyses en 3-D des gels poreux, très peu réalisées dans la littérature à ce jour, démontre une microstructure complexe : régulière et interconnectée. Les gels obtenus semblent également conserver les caractéristiques dimensionnelles imposées par le moule polymère. L'exploitation de la science des mélanges de polymères co-continus pourraient permettre d'obtenir des structures encore plus complexes par l'association de plus de deux phases immiscibles. Par exemple, la réalisation de structures possédant des gradients de taille de pore moyenne en fonction de la profondeur de l'échantillon comme cela existe déjà dans la nature (la peau, les os, les coquilles d'œufs etc.) serait possible. Cette caractéristique permet l'obtention de meilleures propriétés mécaniques tout en conservant les caractéristiques de diffusivité. Le dernier point fort de cette méthode est le coût de fabrication qui est relativement bas comparé aux technologies de prototypage rapides (PR) qui sont les dernières techniques de pointes dans ce domaine. De plus, ces dernières sont relativement restreintes dans les dimensions de l'échantillon final et de la taille de porosité moyenne (Hutmacher, 2000).

L'utilisation de ces nouveaux matériaux vise principalement les hautes technologies qui nécessitent un grand contrôle de la microstructure de gels comportant des porosités interconnectées. L'ingénierie tissulaire est un des domaines les plus prometteurs avec la culture

cellulaire qui exige un grand contrôle de la microstructure des échafaudages utilisés. Les études complémentaires comme la stérilisation des hydrogels poreux et les propriétés mécaniques visent ces applications. Il a été démontré que deux méthodes pouvaient être utilisées pour procurer un environnement stérile aux hydrogels poreux d'agar et d'alginate : la lyophilisation suivie d'une hausse en température ou encore des bains successifs dans une solution à base d'éthanol. Enfin, il faut tenir compte du fait que la porosité diminue fortement les propriétés en compression des échantillons.

Bien que cette méthode présente de nombreux avantages, elle possède également des faiblesses dont il faut tenir compte ou qui doivent être corrigées. Tout d'abord, les propriétés mécaniques en compression des nouveaux matériaux sont largement en dessous de celles des gels sans porosité, aussi les applications visées concernent particulièrement les tissus mous (cartilages, cordes vocales etc.). Il a également été observé qu'il est difficile d'injecter des porosités inférieures à 20 μm pour des échantillons cubiques d'environ 1 cm de côté. Cependant, le système d'injection employé ici était très simple et pourrait être largement amélioré en augmentant la pression pour pallier ce problème. La durée des deux extractions par solvant est également non négligeable (environ 4 semaines) pour la fabrication des hydrogels poreux. L'utilisation d'autres mélanges de polymères est toutefois envisageable. De plus, la présence de molécules de solvant à la fin de la fabrication peut être non souhaitable pour les applications au biomédical. Bien que des analyses Infra-rouge à Transformée de Fourier (IRTF) ont démontré ici l'absence de ces molécules après des rinçages successifs à l'eau distillée, les analyses devront être approfondies.

Les hydrogels comportant des porosités interconnectées peuvent trouver d'autres applications telles que pour des membranes filtrantes, des catalyseurs, des électrolytes, des échafaudages pour la libération de médicament ou encore des produits cosmétiques.

RECOMMANDATIONS FUTURES

Ce projet de recherche possède encore beaucoup de potentiel ainsi, différentes voies peuvent être étudiées par la suite, telles que :

- Réaliser un système d'injection mécanique appliquant des pressions plus importantes qu'une simple pression manuelle. Cette amélioration permettrait d'injecter des échantillons possédant de faibles tailles de pore moyennes et ainsi compléter les caractérisations. Il serait également possible d'injecter des « sols » plus concentrées particulièrement pour l'alginate dont la viscosité est très dépendante de sa fraction volumique en solution (pour un pH donné).
- Montrer la viabilité de cette méthode pour des gels autres que les matériaux utilisés (par exemple : les organogels, les gels chimiques etc.). Ainsi qu'une étude approfondie de leur comportement (viscosité, propriétés mécaniques, pourcentage de rétention, etc.) en fonction de la concentration en polymère.
- Rechercher des solvants plus efficaces et moins nocifs pour les extractions du mélange PLA/PS ou d'un nouveau mélange de polymère. Cette étude permettrait de limiter la durée de fabrication de l'hydrogel poreux et d'éliminer la contrainte des solvants dans les applications liées aux biomédicales.
- Penser à une nouvelle méthode permettant de caractériser la taille de pore moyenne des gels poreux sans que la désorption d'eau soit nécessaire. En effet, l'eau en présence influence les résultats obtenus par microtomographie car cette méthode ne différencie pas la phase aqueuse de l'hydrogel.
- Étudier l'effet de la lyophilisation sur la microstructure et sur les propriétés mécaniques des hydrogels poreux. Dans ce projet on remarque que la porosité semble avoir diminuée, mais les recherches n'ont pas été suffisamment approfondies. De plus, l'hydrogel lyophilisé semble présenter des fissures ce qui doit influencer les propriétés mécanique finales. Cette étude pourrait éliminer la lyophilisation comme voie possible de stérilisation.

- Trouver un moyen pour améliorer les propriétés mécaniques des hydrogels poreux par : l'utilisation de charges, l'arrangement moléculaire, la composition ou encore la forme et la taille des pores (ex. gradient de porosité).
- Enfin, dans le but de prouver la possibilité d'utilisation de ces échafaudages pour l'ingénierie tissulaire, la culture cellulaire pourrait être accomplie. Les cellules fibroblastes sont généralement choisies pour démontrer l'efficacité ou non d'hydrogels poreux (Shapiro, 1997)).

BIBLIOGRAPHIE

- Agulhon, P., Robitzer, M., David, L., & Quignard, F. (2012). Structural regime identification in ionotropic alginate gels: Influence of the cation nature and alginate structure. *Biomacromolecules*, 13(1), 215-220. doi: 10.1021/bm201477g
- Ahearne, Yang, X.-Q., & Liu. (2008). Mechanical Characterization of Hydrogels for Tissue Engineering Application. In Ashammakhi & Reis (Eds.), *Topics in Tissue Engineering* (Vol. 4).
- Annabi, Nichol, Zhong, Ji, Koshy, Khademhosseini, & Dehghani. (2010). Controlling the Porosity and Microarchitecture of Hydrogels for Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part B-reviews*, 16(4), 371-383.
- Araki. (1965). Some recent studies on the polysaccharides of agarophytes. *Proc. int. Seaweed Symp*, 5, 3-17.
- Awad, H. A., Quinn Wickham, M., Leddy, H. A., Gimble, J. M., & Guilak, F. (2004). Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials*, 25(16), 3211-3222.
- Barbetta, A., Rizzitelli, G., Bedini, R., Pecci, R., & Dentini, M. (2010). Porous gelatin hydrogels by gas-in-liquid foam templating. [10.1039/B920049E]. *Soft Matter*, 6(8), 1785-1792. doi: 10.1039/b920049e
- Bourry, D., & Favis, B. D. (1998). Cocontinuity and phase inversion in HDPE/PS blends: Influence of interfacial modification and elasticity. [Article]. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, 36(11), 1889-1899. doi: 10.1002/(sici)1099-0488(199808)36:11<1889::aid-polb10>3.3.co;2-d
- Brunauer, S., Emmett, P. H., & Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-319.
- Chen, J., & Park, K. (2000). Synthesis and characterization of superporous hydrogel composites. *Journal of Controlled Release*, 65(1-2), 73-82.
- Chippada, U. (2010). *Non-intrusive characterization of properties of hydrogels*. 3397489 Ph.D., Rutgers The State University of New Jersey - New Brunswick, Ann Arbor. ProQuest Dissertations & Theses A&I; ProQuest Dissertations & Theses Full Text database.
- Chiu, Y.-C., Cheng, M.-H., Engel, H., Kao, S.-W., Larson, J. C., Gupta, S., & Brey, E. M. (2011). The role of pore size on vascularization and tissue remodeling in PEG hydrogels. *Biomaterials*, 32(26), 6045-6051.
- Colosi, C., Costantini, M., Barbetta, A., Pecci, R., Bedini, R., & Dentini, M. (2012). Morphological Comparison of PVA Scaffolds Obtained by Gas Foaming and Microfluidic Foaming Techniques. *Langmuir*, 29(1), 82-91. doi: 10.1021/la303788z
- Cox, R. G. (1969). DEFORMATION OF A DROP IN A GENERAL TIME-DEPENDENT FLUID FLOW. *Journal of Fluid Mechanics*, 37(pt 3), 601-623.
- De Moura, M. R., Guilherme, M. R., Campese, G. M., Radovanovic, E., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2005). Porous alginate-Ca²⁺ hydrogels interpenetrated with PNIPAAm networks:

- Interrelationship between compressive stress and pore morphology. *European Polymer Journal*, 41(12), 2845-2852.
- Deng, M., Nair, L. S., Nukavarapu, S. P., Kumbar, S. G., Jiang, T., Weikel, A. L., . . . Laurencin, C. T. (2010). In situ Porous Structures: A Unique Polymer Erosion Mechanism in Biodegradable Dipeptide-Based Polyphosphazene and Polyester Blends Producing Matrices for Regenerative Engineering. *Advanced Functional Materials*, 20(17), 2794-2806. doi: 10.1002/adfm.201000968
- Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., & Sakthi Kumar, D. (2011). Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. [Article]. *International Journal of Polymer Science*, 1-19. doi: 10.1155/2011/290602
- Dumitriu. (1988). *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. New York.
- Elmendorp, J. J. (1986). A study on polymer blending microrheology. *Polymer Engineering & Science*, 26(6), 418-426. doi: 10.1002/pen.760260608
- Favis, & Chalifoux. (1988). Influence of composition on the morphology of polypropylene/polycarbonate blends. *Polymer*, 29(10), 1761-1767.
- Favis, Cigana, Matos, & Tremblay. (1997). Factors influencing the efficacy of an interfacial modifier for the interface in an immiscible polymer blend. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 75(2), 273-281. doi: 10.1002/cjce.5450750201
- Ferry. (1980). Viscoelastic properties of polymers. *John Wiley & sons*, 486-544.
- Fidkowski, C., Kaazempur-Mofrad, M. R., Borenstein, J., Vacanti, J. P., Langer, R., & Wang, Y. (2005). Endothelialized Microvasculature Based on a Biodegradable Elastomer. *Tissue Engineering*, 11(1-2), 302-309.
- Galloway, Jeon, Bell, & Macosko. (2005). Block copolymer compatibilization of cocontinuous polymer blends. [Article]. *Polymer*, 46(1), 183-191. doi: 10.1016/j.polymer.2004.10.061
- Galloway, Montminy, & Macosko. (2002). Image analysis for interfacial area and cocontinuity detection in polymer blends. *Polymer*, 43(17), 4715-4722.
- Gerecht, S., Townsend, S. A., Pressler, H., Zhu, H., Nijst, C. L. E., Bruggeman, J. P., . . . Langer, R. (2007). A porous photocurable elastomer for cell encapsulation and culture. *Biomaterials*, 28(32), 4826-4835.
- Glicksmann. (1982). *Food hydrocolloids* (Vol. II): CRC.
- Gong, Y., He, L., Li, J., Zhou, Q., Ma, Z., Gao, C., & Shen, J. (2007). Hydrogel-filled polylactide porous scaffolds for cartilage tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 82B(1), 192-204. doi: 10.1002/jbm.b.30721
- Gorin. (1965). Configuration of pyruvic acid ketals, 4,6-O-linked to D-galactose units, in bacterial and algal polysaccharides. *Canadian Journal of Chemistry*, 45, 521.
- Gould, T. W. A., Mallick, A. S., Birchall, J. P., Lustig, L. R., Shakesheff, K. M., & Rahman, C. V. (2012). Development of a porous polymer scaffold for mastoid bone regeneration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 6, 152-152.
- Grace, H. P. (1982). DISPERSION PHENOMENA IN HIGH VISCOSITY IMMISCIBLE FLUID SYSTEMS AND APPLICATION OF STATIC MIXERS AS DISPERSION

- DEVICES IN SUCH SYSTEMS. *Chemical Engineering Communications*, 14(3-6), 225-277.
- Griffon, D. J., Sedighi, M. R., Schaeffer, D. V., Eurell, J. A., & Johnson, A. L. (2006). Chitosan scaffolds: Interconnective pore size and cartilage engineering. *Acta Biomaterialia*, 2(3), 313-320.
- Gu, F., Amsden, B., & Neufeld, R. (2004). Sustained delivery of vascular endothelial growth factor with alginate beads. *Journal of Controlled Release*, 96(3), 463-472.
- Guo, J., Jin, Y.-C., Yang, X.-Q., Yu, S.-J., Yin, S.-W., & Qi, J.-R. (2013). Computed microtomography and mechanical property analysis of soy protein porous hydrogel prepared by homogenizing and microbial transglutaminase cross-linking. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 220-226.
- He, Bu, & Zeng. (1997). Co-phase continuity in immiscible binary polymer blends. [Article]. *Polymer*, 38(26), 6347-6353. doi: 10.1016/s0032-3861(97)00212-7
- Hu, C., Tercero, C., Ikeda, S., Nakajima, M., Tajima, H., Shen, Y., . . . Arai, F. (2013). Biodegradable porous sheet-like scaffolds for soft-tissue engineering using a combined particulate leaching of salt particles and magnetic sugar particles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116(1), 126-131.
- Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21(24), 2529-2543.
- Hwang, C. M., Sant, S., Masaeli, M., Kachouie, N. N., Zamanian, B., Lee, S. H., & Khademhosseini, A. (2010). Fabrication of three-dimensional porous cell-laden hydrogel for tissue engineering. [Article]. *Biofabrication*, 2(3). doi: 035003
10.1088/1758-5082/2/3/035003
- Janssen, J. M. H., & Meijer, H. E. H. (1995). DYNAMICS OF LIQUID-LIQUID MIXING - A 2-ZONE MODEL. [Article]. *Polymer Engineering and Science*, 35(22), 1766-1780. doi: 10.1002/pen.760352206
- Joseph, S., & Thomas, S. (2003). Morphology, morphology development and mechanical properties of polystyrene/polybutadiene blends. *European Polymer Journal*, 39(1), 115-125.
- Kalb, B., Cox, R. G., & Manley, R. S. J. (1982). Hydrodynamically induced formation of cellulose fibers. III. Coagulation of droplets of cellulose solution in extensional flow. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 20(7), 1207-1222. doi: 10.1002/pol.1982.180200708
- Kazemi-Tutunchi, G., Wei, C., Shirwaiker, R. A., & Dong, J. (2012). A Process Engineering Perspective of Scaffold Fabrication Methods in Regenerative Medicine: A Review. *IIE Annual Conference. Proceedings*, 1-10.
- Khademhosseini, A., & Langer, R. (2007). Microengineered hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(34), 5087-5092.
- Kim, Chung, & Park. (2008). Macroporous and nanofibrous hyaluronic acid/collagen hybrid scaffold fabricated by concurrent electrospinning and deposition/leaching of salt particles. *Acta Biomaterialia*, 4(6), 1611-1619.

- Kim, Kim, Vunjak-Novakovic, Min, & Kaplan. (2005). Influence of macroporous protein scaffolds on bone tissue engineering from bone marrow stem cells. *Biomaterials*, 26(21), 4442-4452.
- Kim, & Mooney. (1998). Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering. *Trends in Biotechnology*, 16(5), 224-230.
- Koningsveld, Kleintjens, & Schoffeleers. (1974). *Thermodynamic aspects of polymer compatibility*. Paper presented at the International Symposium on Macromolecules, 10-14 Sept. 1973, UK.
- Korkina, L., Kostyuk, V., & Guerra, L. (2009). Biohydrogels for the In Vitro Re-construction and In Situ Regeneration of Human Skin *Hydrogels* (pp. 97-109): Springer Milan.
- Laas. (1975). Acta Universitatis Upsaliensis: D. thesis.
- Landers, R., Pfister, A., Hübner, U., John, H., Schmelzeisen, R., & Mülhaupt, R. (2002). Fabrication of soft tissue engineering scaffolds by means of rapid prototyping techniques. *Journal of Materials Science*, 37(15), 3107-3116. doi: 10.1023/a:1016189724389
- Lee, Jeong, Bae, Yang, Heo, Kim, . . . Kwon. (2011). Highly Porous Electrospun Nanofibers Enhanced by Ultrasonication for Improved Cellular Infiltration. *Tissue Engineering, Part A: Tissue Engineering*, 17(21-22), 2695-2702.
- Lee, J. K., & Han, C. D. (1999). Evolution of polymer blend morphology during compounding in an internal mixer. *Polymer*, 40(23), 6277-6296.
- Lee, M.-Y., Liu, S.-W., Chen, J.-P., Liao, H.-T., Tsai, W.-W., & Wang, H.-C. (2011). *In vitro experiments on laser sintered porous pcl scaffolds with polymer hydrogel for bone repair*, 5 Toh Tuck Link, Singapore, 596224, Singapore.
- Li, & Favis. (2001). Characterizing co-continuous high density polyethylene/polystyrene blends. *Polymer*, 42(11), 5047-5053.
- Li, Ma, & Favis. (2002). The role of the blend interface type on morphology in cocontinuous polymer blends. *Macromolecules*, 35(6), 2005-2016. doi: 10.1021/ma010104+
- Marra, K. G., Szem, J. W., Kumta, P. N., DiMilla, P. A., & Weiss, L. E. (1999). In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. [Article]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47(3), 324-335. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(19991205)47:3<324::aid-jbm6>3.0.co;2-y
- Martin, I., Obradovic, B., Treppo, S., Grodzinsky, A. J., Langer, R., Freed, L. E., & Vunjak-Novakovic, G. (2000). *Modulation of the mechanical properties of tissue engineered cartilage*. Paper presented at the 1st International Symposium on Mechanobiology: Cartilage and Chondrocyte, 28 Aug. 1999, Netherlands.
- McHugu. (1987). Production and utilization of products from commercial seaweeds. *FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER*, 288.
- Medina-Esquivel, Freile-Pelegrin, Quintana-Owen, Yáñez-Limón, & Alvarado-Gil. (2008). Measurement of the Sol–Gel Transition Temperature in Agar. *International Journal of Thermophysics*, 29(6), 2036-2045. doi: 10.1007/s10765-007-0332-6

- Mikos, A. G., Sarakinos, G., Leite, S. M., Vacanti, J. P., & Langer, R. (1993). Laminated three-dimensional biodegradable foams for use in tissue engineering. *Biomaterials*, 14(5), 323-330.
- Mikos, A. G., Thorsen, A. J., Czerwonka, L. A., Bao, Y., Langer, R., Winslow, D. N., & Vacanti, J. P. (1994). PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF POLY(L-LACTIC ACID) FOAMS. [Article]. *Polymer*, 35(5), 1068-1077. doi: 10.1016/0032-3861(94)90953-9
- Miyoshi, H., Murao, M., Ohshima, N., & Tun, T. (2011). Three-dimensional culture of mouse bone marrow cells within a porous polymer scaffold: effects of oxygen concentration and stromal layer on expansion of haematopoietic progenitor cells. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 5(2), 112-118. doi: 10.1002/term.295
- Nichol, J. W., & Khademhosseini, A. (2009). Modular tissue engineering: engineering biological tissues from the bottom up. [10.1039/B814285H]. *Soft Matter*, 5(7), 1312-1319. doi: 10.1039/b814285h
- Ophir, A., Dotan, A., Belinsky, I., & Kenig, S. (2010). Barrier and mechanical properties of nanocomposites based on polymer blends and organoclays. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(1), 72-83. doi: 10.1002/app.31285
- Ottenbrite, P., Okano. (2010). *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*.
- Partap, S., Muthutantri, A., Rehman, I. U., Davis, G. R., & Darr, J. A. (2007). Preparation and characterisation of controlled porosity alginate hydrogels made via a simultaneous micelle templating and internal gelation process. [Article]. *Journal of Materials Science*, 42(10), 3502-3507. doi: 10.1007/s10853-007-1533-x
- Peppas. (1986). HYDROGELS IN MEDICINE AND PHARMACY (V 1, FUNDAMENTALS; V 2, POLYMERS; V 3, PROPERTIES AND APPLICATIONS). Boca Raton, FL, USA: CRC Press Inc.
- Peppas, Huang, Torres-Lugo, Ward, & Zhang. (2000). Physicochemical, foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. [Review]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2, 9-29. doi: 10.1146/annurev.bioeng.2.1.9
- Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A., & Langer, R. (2006). Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology. *Advanced Materials*, 18(11), 1345-1360. doi: 10.1002/adma.200501612
- Perilla, J. E., & Jana, S. C. (2005). Coalescence of immiscible polymer blends in chaotic mixers. *AIChE Journal*, 51(10), 2675-2685. doi: 10.1002/aic.10500
- Phull, M., Eydmann, T., Roxburgh, J., Sharpe, J., Lawrence-Watt, D., Phillips, G., & Martin, Y. (2013). Novel macro-microporous gelatin scaffold fabricated by particulate leaching for soft tissue reconstruction with adipose-derived stem cells. [Article]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(2), 461-467. doi: 10.1007/s10856-012-4806-0
- Pines, E., & Prins, W. (1972). The effect of nonrandom crosslinking on the light scattering of swollen polymer networks. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters*, 10(9), 719-724. doi: 10.1002/pol.1972.110100912
- Plateau. (1873). *Statistique expérimentale et théorique des liquides* Paris.

- Qiu, Y., & Park, K. (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53(3), 321-339.
- Ravati, S., & Favis, B. D. (2010). Morphological states for a ternary polymer blend demonstrating complete wetting. *Polymer*, 51(20), 4547-4561. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2010.07.014>
- Rayleigh, L. (1892). On the Instability of Cylindrical Fluid Surfaces. *Phylisophical Magazin*, 34, 145.
- Reneker, & Chun. (1996). Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*, 7, 216-223.
- Robeson, L. M. (2007). *Polymer blends : a comprehensive review*. Munich, [Allemagne]: Hanser.
- Rolison, D. R. (2003). Catalytic nanoarchitectures--the importance of nothing and the unimportance of periodicity. *Science*, 299(5613), 1698-1701.
- Roy, X., Sarazin, P., & Favis, B. D. (2006). Ultraporous Nanosheath Materials by Layer-by-Layer Deposition onto Co-continuous Polymer-Blend Templates. *Advanced Materials*, 18(8), 1015-1019. doi: 10.1002/adma.200501210
- Rubinstein, M., & Colby, R. H. (2003). *Polymer Physics*: Oxford University Press.
- Salehi, P., Sarazin, P., & Favis, B. D. (2008). Porous Devices Derived from Co-Continuous Polymer Blends as a Route for Controlled Drug Release. *Biomacromolecules*, 9(4), 1131-1138. doi: 10.1021/bm7010467
- Sarazin, & Favis. (2003). Morphology control in co-continuous poly(L-lactide)/polystyrene blends: A route towards highly structured and interconnected porosity in poly(L-lactide) materials. [Article]. *Biomacromolecules*, 4(6), 1669-1679. doi: 10.1021/bm030034+
- Sarazin, & Favis. (2005). Influence of temperature-induced coalescence effects on co-continuous morphology in poly(ϵ -caprolactone)/polystyrene blends. *Polymer*, 46(16), 5966-5978.
- Sarazin, & Favis. (2007). Stability of the co-continuous morphology during melt mixing for poly(ϵ -caprolactone)/polystyrene blends. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 45(7), 864-872. doi: 10.1002/polb.21078
- Sarazin, Roy, & Favis. (2004). Controlled preparation and properties of porous poly(L-lactide) obtained from a co-continuous blend of two biodegradable polymers. [Article]. *Biomaterials*, 25(28), 5965-5978. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.065
- Schafer, S. E., & Stevens, E. S. (1995). A reexamination of the double-helix model for agarose gels using optical rotation. *Biopolymers*, 36(1), 103-108. doi: 10.1002/bip.360360109
- Shapiro. (1997). Novel alginate sponges for cell culture and transplantation. *Biomaterials*, 18(8), 583.
- Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A., & Peppas, N. A. (2009). Hydrogels in Regenerative Medicine. *Advanced Materials*, 21(32-33), 3307-3329. doi: 10.1002/adma.200802106
- Smoluchowski. (1917). Versuch einer mathematischen Theorie der Koagulationskinetik kolloider Lösungen. *Z. physikalische Chemie*, 92, 129-168

- Starita, J. M. (1972). Microstructure of melt blended polymer systems. *Transactions of the Society of Rheology*, 16(2), 339-367.
- Stephen, Phillips, & Williams. (1995). *Food Polysaccharides and Their Applications*. New York: Basel.
- Subramania, A., Sundaram, N. T. K., & Kumar, G. V. (2006). Structural and electrochemical properties of micro-porous polymer blend electrolytes based on PVdF-co-HFP-PAN for Li-ion battery applications. [Article]. *Journal of Power Sources*, 153(1), 177-182. doi: 10.1016/j.jpowsour.2004.12.009
- Sungsanit, K., Kao, N., Bhattacharya, S. N., & Pivsaart, S. (2010). Physical and rheological properties of plasticized linear and branched PLA. [Article]. *Korea-Australia Rheology Journal*, 22(3), 187-195.
- Svensson, A., Nicklasson, E., Harrah, T., Panilaitis, B., Kaplan, D. L., Brittberg, M., & Gatenholm, P. (2005). Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, 26(4), 419-431.
- Syed, Gulrez, & Glyn. (2011). Hydrogels : methods of preparation, characterisation and applications. In A. Carpi (Ed.), *Progress in molecular and environmental bioengineering - From analysis and modeling to technology applications*.
- Taylor, G. I. (1932). Viscosity of a fluid containing small drops of another fluid. *Proceedings of the Royal Society of London*, 138, 41-48.
- Taylor, G. I. (1934). Formation of emulsions in definable fields of flow. *Proceedings of the Royal Society of London, Series A (Mathematical and Physical Sciences)*, 146, 501-523.
- Tithi Dutta, R., Joshua, L. S., John, L. R., Rekow, E. D., & Van, P. T. (2003). Performance of degradable composite bone repair products made via three-dimensional fabrication techniques. [Article]. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 66(2), 283-291.
- Tokarev, I., & Minko, S. (2010). Stimuli-Responsive Porous Hydrogels at Interfaces for Molecular Filtration, Separation, Controlled Release, and Gating in Capsules and Membranes. *Advanced Materials*, 22(31), 3446-3462. doi: 10.1002/adma.201000165
- Tomotika, S. (1935). Instability of a cylindrical thread of a viscous liquid surrounded by another viscous fluid. *Proceedings of the Royal Society of London, Series A (Mathematical and Physical Sciences)*, 150, 322-337.
- Tonnesen, H. H., & Karlsen, J. (2002). Alginate in drug delivery systems. [Review]. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6), 621-630.
- Underwood, E. E. (1970). *Quantitative stereology* (Vol. Chapter 2): Addison-Wesley Pub. Co.
- Virgilio, N., Sarazin, P., & Favis, B. D. (2011). Ultraporous poly(l-lactide) scaffolds prepared with quaternary immiscible polymer blends modified by copolymer brushes at the interface. *Polymer*, 52(7), 1483-1489. doi: 10.1016/j.polymer.2011.01.061
- Wake, Patrick, & Antonio, M. (1994). Pore morphology effects on the fibrovascular tissue growth in porous polymer substrates. *Cell transplant*, 3, 339.
- Washburn, E. W. (1921). The dynamics of capillary flow. *Physical Review*, 18(3), 273-283.

- Wattanaphanit, A., & Saito, N. (2013). Effect of polymer concentration on the depolymerization of sodium alginate by the solution plasma process. *Polymer Degradation and Stability*, 98(5), 1072-1080.
- Whang, K., Healy, K. E., Elenz, D. R., Nam, E. K., Tsai, D. C., Thomas, C. H., . . . Sprague, S. M. (1999). Engineering Bone Regeneration with Bioabsorbable Scaffolds with Novel Microarchitecture. *Tissue Engineering*, 5(1), 35-51.
- Whang, K., Thomas, C. H., Healy, K. E., & Nuber, G. (1995). A NOVEL METHOD TO FABRICATE BIOABSORBABLE SCAFFOLDS. *Polymer*, 36(4), 837-842.
- Wu, C.-G., Lu, M.-I., & Chuang, H.-J. (2005). PVdF-HFP/P123 hybrid with mesopores: A new matrix for high-conducting, low-leakage porous polymer electrolyte. *Polymer*, 46(16), 5929-5938. doi: 10.1016/j.polymer.2005.05.077
- Xiang, Sarazin, & Favis. (2009). Controlling Burst and Final Drug Release Times from Porous Polylactide Devices Derived from Co-continuous Polymer Blends. [Article]. *Biomacromolecules*, 10(8), 2053-2066. doi: 10.1021/bm8013632
- Xiong, J. Y., Narayanan, J., Liu, X. Y., Chong, T. K., Chen, S. B., & Chung, T. S. (2005). Topology evolution and gelation mechanism of agarose gel. [Article]. *Journal of Physical Chemistry B*, 109(12), 5638-5643. doi: 10.1021/jp044473u
- Yan, D.-X., Huang, H.-D., Gao, J.-F., Dai, K., Zhang, W.-Q., & Li, Z.-M. (2013). A conductive carbon nanotube-polymer composite based on a co-continuous blend. *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics*, 52(1), 167-177. doi: 10.1080/00222348.2013.731940
- Yao, D., Zhang, W., & Zhou, J. G. (2009). Controllable growth of gradient porous structures. *Biomacromolecules*, 10(5), 1282-1286. doi: 10.1021/bm900008d
- Yin, L., Fei, L., Tang, C., & Yin, C. (2007). Synthesis, characterization, mechanical properties and biocompatibility of interpenetrating polymer network-super-porous hydrogel containing sodium alginate. *Polymer International*, 56(12), 1563-1571. doi: 10.1002/pi.2306
- Yuan, & Favis. (2005). Coarsening of immiscible co-continuous blends during quiescent annealing. [Article]. *AIChE Journal*, 51(1), 271-280. doi: 10.1002/aic.10281
- Zhang. (2011). *CONTROLLABLE GROWTH OF POROUS STRUCTURES FROM CO-CONTINUOUS POLYMER BLEND*. Ph.D., School of Materials Science and Engineering, Georgia Institute of Technology. (3464138)
- Zhang, & Wang. (2007). Micropatterning of Proteins on 3D Porous Polymer Film Fabricated by Using the Breath-Figure Method. *Advanced Materials*, 19(7), 913-916. doi: 10.1002/adma.200601169
- Zhao, Hu, Evans, & Harris. (2011). Study of sol-gel transition in calcium alginate system by population balance model. *Chemical Engineering Science*, 66(5), 848-858.
- Zou, H., Huang, X., Ye, M., & Luo, Q. (2002). Monolithic stationary phases for liquid chromatography and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 954(1-2), 5-32.

ANNEXES

ANNEXE 1 – Paramètres détaillés des mesures au Microtomographe

[System]
 Scanner=Skyscan1172
 Instrument S/N=08E01092
 Hardware version=A
 Software=Version 1. 5 (build 9)
 Home directory=C:\SkyScan
 Source Type=Hamamatsu 100/250
 Camera=Hamamatsu 10Mp camera
 Camera Pixel Size (um)= 11.55
 CameraXYRatio=0.9987
 Incl.in lifting (um/mm)=2.7000
 [Acquisition]
 Data directory=C:\Data\2012\Interne
 Filename Prefix=Agar-100um-2
 Number of Files= 511
 Source Voltage (kV)= 40
 Source Current (uA)= 250
 Number of Rows= 1048
 Number of Columns= 2000
 Image Pixel Size (um)= 9.27
 Object to Source (mm)=86.140
 Camera to Source (mm)=214.602
 Vertical Object Position (mm)=55.000
 Optical Axis (line)= 510
 Filter=No filter
 Image Format=TIFF
 Depth (bits)=16
 Screen LUT=0
 Exposure (ms)= 147
 Rotation Step (deg)=0.400
 Frame Averaging=ON (4)
 Random Movement=ON (10)
 Use 360 Rotation=NO
 Geometrical Correction=ON
 Camera Offset=OFF
 Median Filtering=ON
 Flat Field Correction=ON
 Rotation Direction=CC
 Scanning Trajectory=ROUND
 Type Of Motion=STEP AND SHOOT
 Study Date and Time=Nov 26, 2012 11:22:53
 Scan duration=00:26:55

[Reconstruction]
Reconstruction Program=NRecon
Program Version=Version: 1.6.6.0
Program Home Directory=C:\Users\Anne-Laure\Documents\Maîtrise\Maîtrise AUT
12\Microtomographie\Logiciels
Reconstruction engine=NReconServer
Engine version=Version: 1.6.6
Reconstruction from batch=No
Reconstruction servers= ANNE-LAURE-VAIO
Option for additional F4F float format=OFF
Reconstruction mode=Standard
Dataset Origin=Skyscan1172
Dataset Prefix=Agar-100um-2
Dataset Directory=E:\11-26\Agar-100um-2
Output Directory=E:\11-26\Agar-100um-2\Rec1
Time and Date=Nov 27, 2012 12:13:45
First Section=640
Last Section=930

ANNEXE 2 – Analyses IRTF des hydrogels poreux

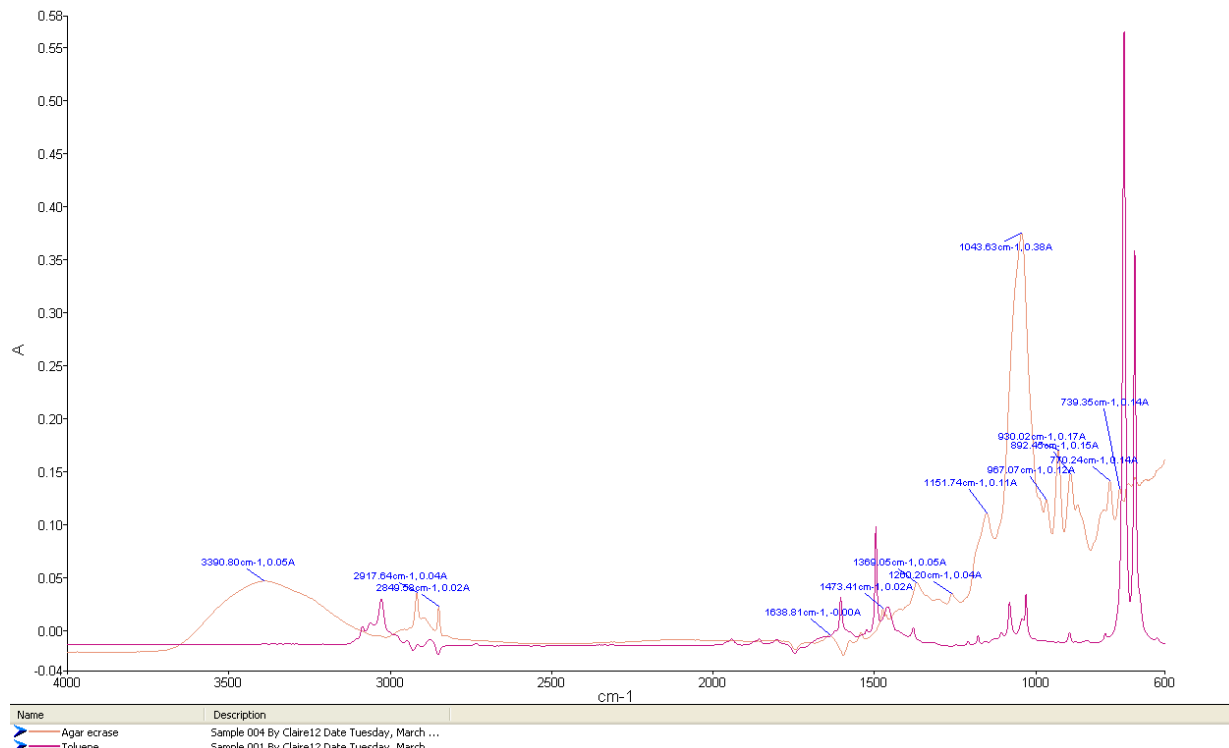


Figure A.1 : Spectre IRTF de l'agar (orange) et du toluène (Rose).

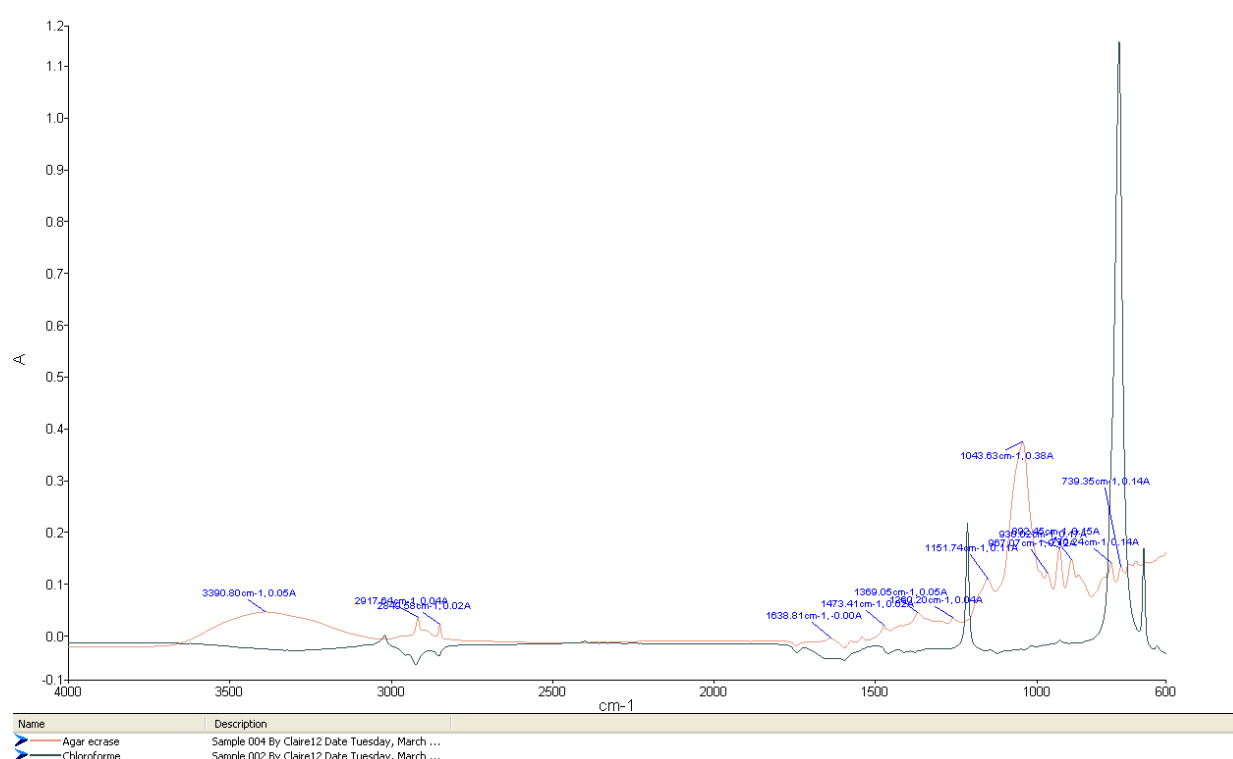


Figure A.2 : Spectre IRTF de l'agar (orange) et du chloroforme (bleu).

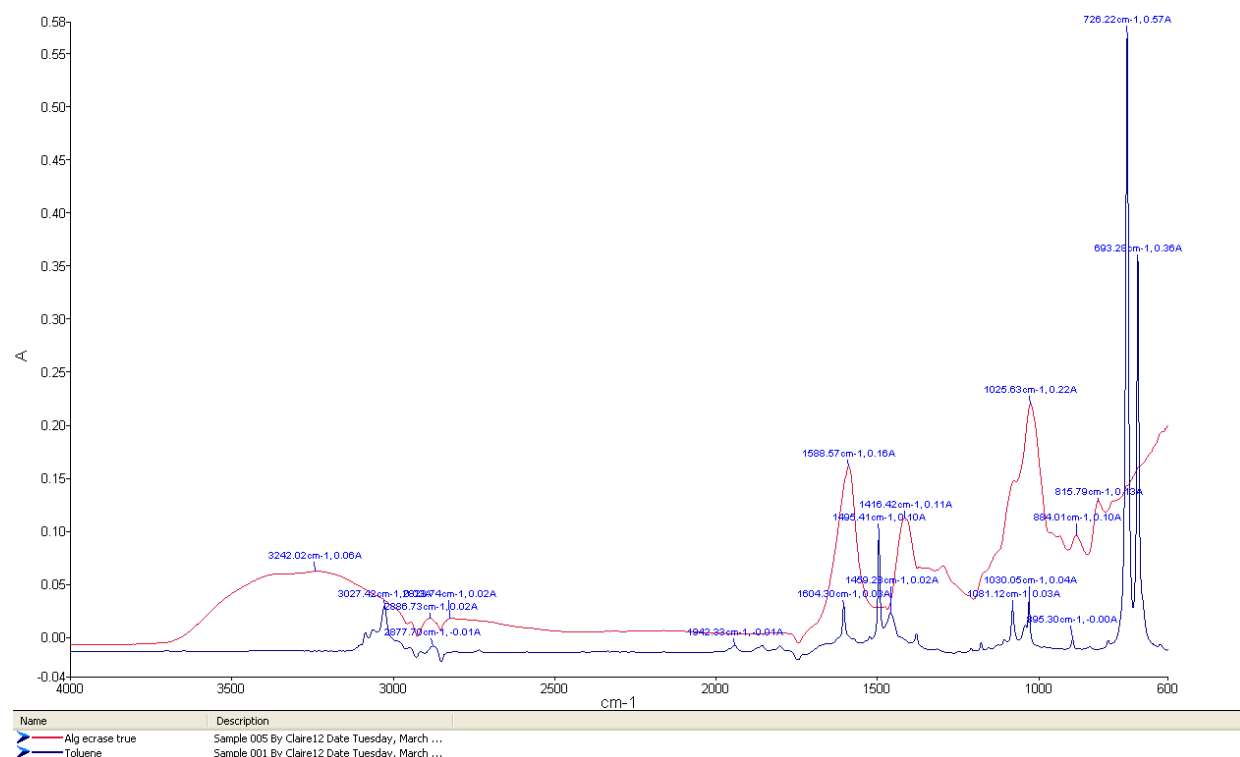


Figure A.3 : Spectre IRTF de l'alginate (rouge) et du toluène (bleu).

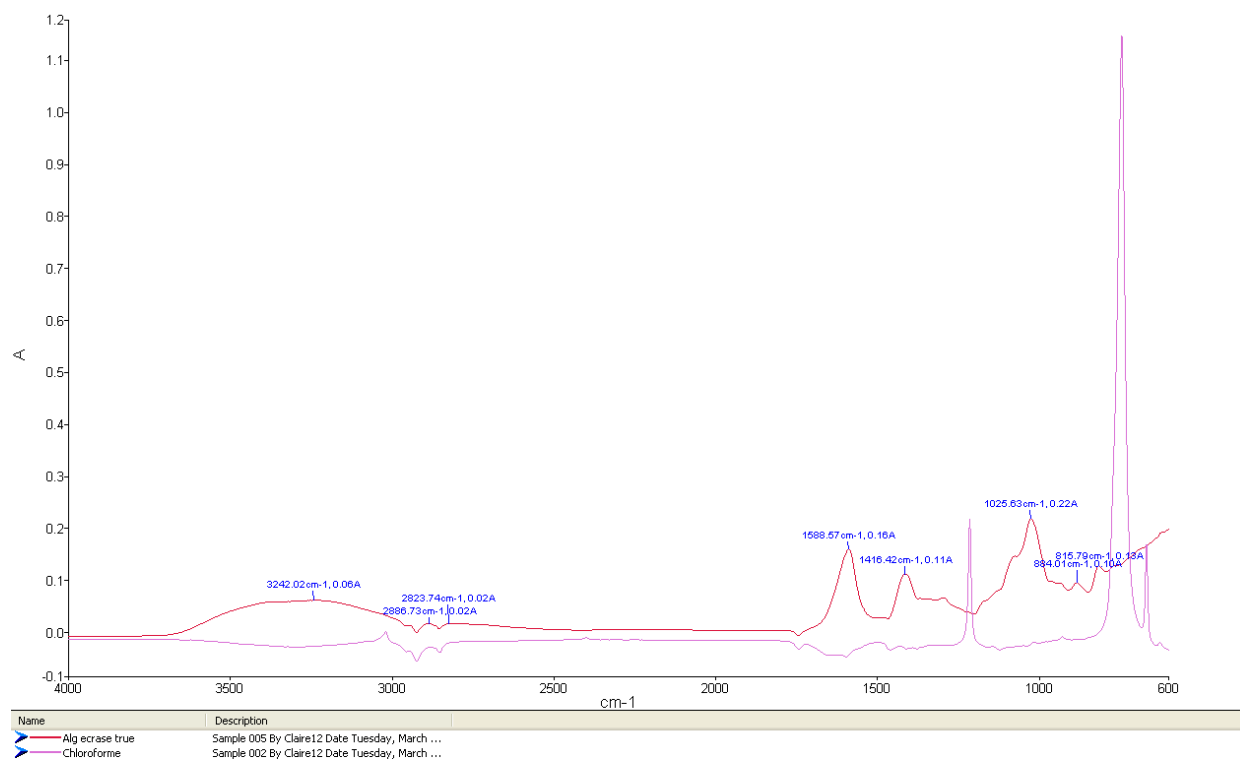


Figure A.4 : Spectre IRTF de l'alginate (rouge) et du chloroforme (rose).

ANNEXE 3 – Courbes contrainte/déformation des hydrogels poreux

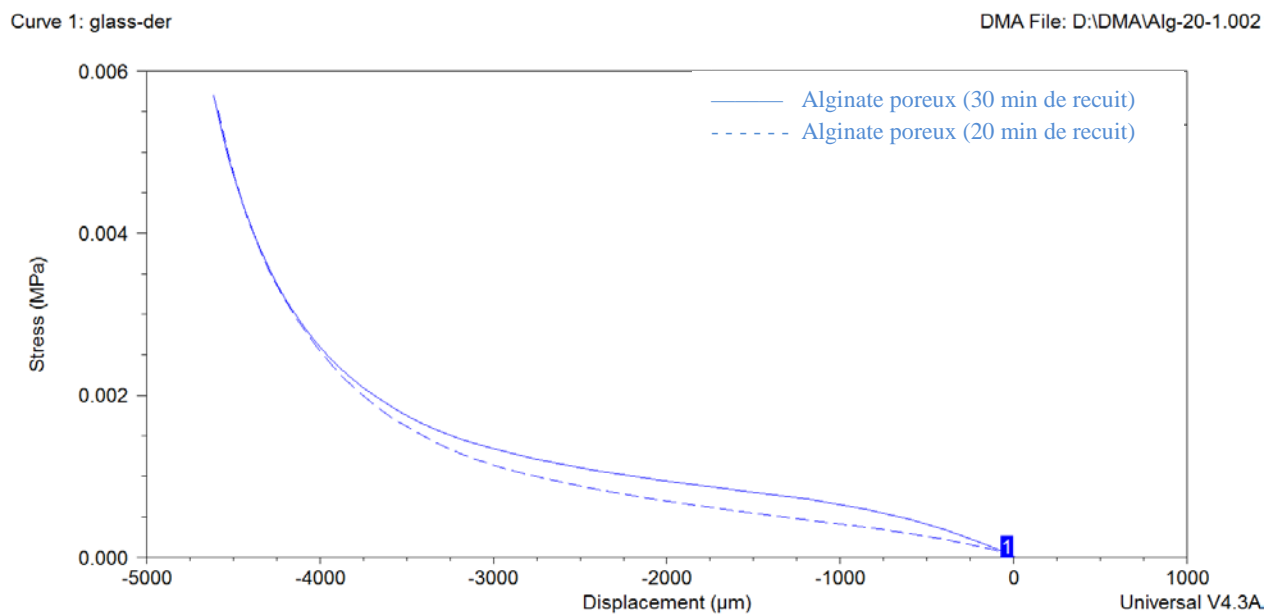


Figure A.5 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'alginate poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.

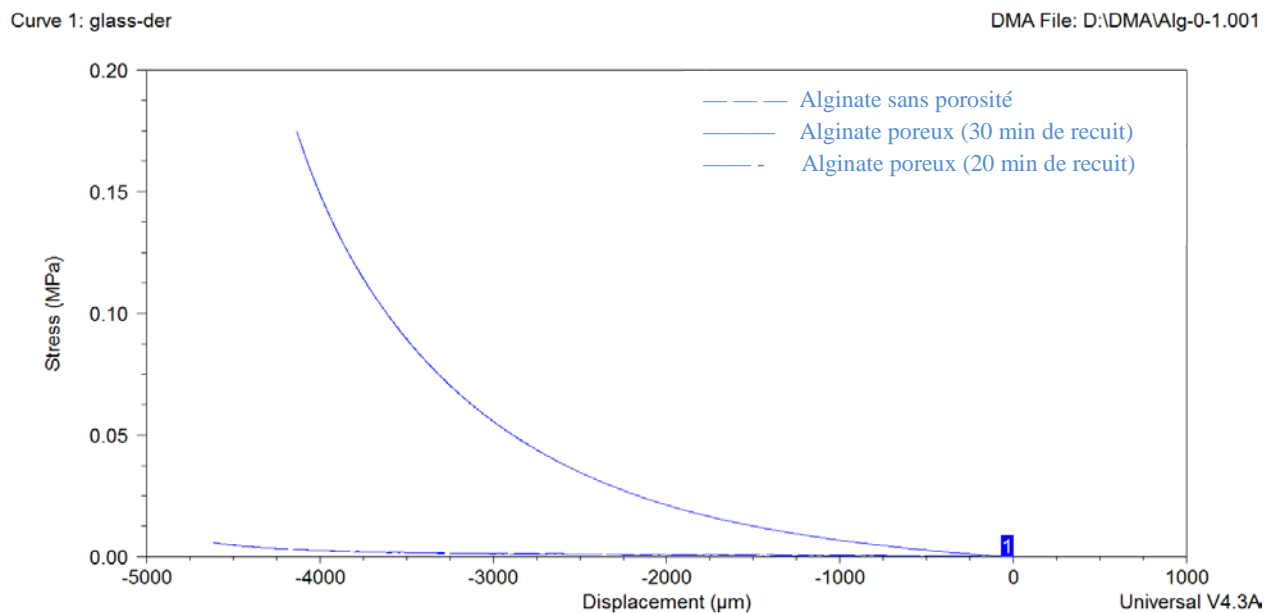


Figure A.6 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'alginate poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit et d'agar sans porosité.

Curve 1: glass-der

DMA File: D:\DMA\Alg-20-1.002

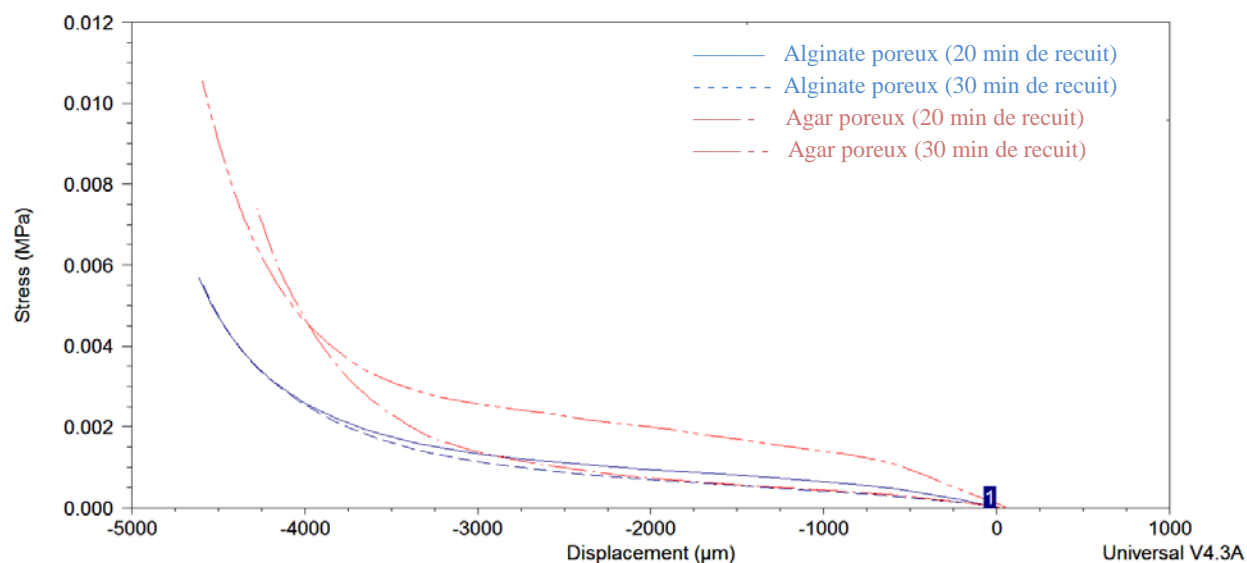


Figure A.7 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons de barreaux d'agar (en rouge) et d'alginate (en bleu) poreux issus de PLA poreux de 20 et 30 min de recuit.

Curve 1: glass-der

DMA File: D:\DMA\Alg-0-1.001

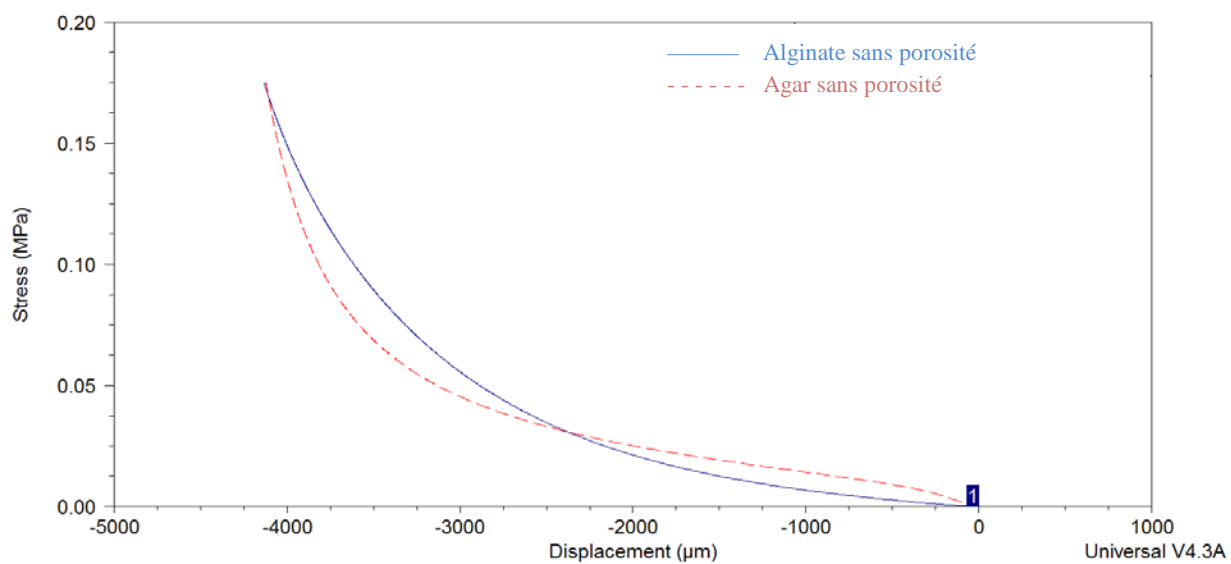


Figure A.8 : Courbe de la contrainte en fonction de la déformation pour des échantillons d'agar (en rouge) et d'alginate (en bleu) sans porosité.